Série A, n°
N° d'ordre :

236

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES D'ORSAY
UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Jean MOUSSEAU

1re THÈSE :

Analyse de la structure fine d'un gène chez ASCOBOLUS IMMERSUS. Contribution à l'étude de la recombinaison méïotique

2me THÈSE :

Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 13 Avril 1967 devant la Commission d'Examen.

M. L'HERITIER : PRÉSIDENT

M. RIZET
Mme GANS
M. VIGIER
} EXAMINATEURS

Série A, n°
N° d'ordre :

236

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES D'ORSAY
UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Jean MOUSSEAU

1re THÈSE :

Analyse de la structure fine d'un gène chez ASCOBOLUS IMMERSUS. Contribution à l'étude de la recombinaison méïotique

2me THÈSE :

Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 13 Avril 1967 devant la Commission d'Examen.

M. L'HERITIER : PRÉSIDENT

M. RIZET
Mme GANS
M. VIGIER
} EXAMINATEURS

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Les recherches exposées dans ce mémoire ont été effectuées aux Laboratoires de Génétique Physiologique du C.N.R.S. à Gif sur Yvette et de la Faculté des Sciences de Paris.

Je tiens à remercier Monsieur le Professeur EPHRUSSI qui m'a permis de travailler dans son laboratoire et qui a suivi avec intérêt le développement de mes travaux.

J'ai eu avec G. BRUN, M. SICARD, P. VIGIER, Maîtres de Conférences et J.L. ROSSIGNOL des discussions vives et ouvertes, je les en remercie.

Je tiens à assurer Madame M. GANS, Professeur de ma profonde reconnaissance pour ses conseils, ses critiques et ses encouragements qui m'ont été précieux pour l'exposé et la discussion des résultats.

A Monsieur le Professeur P. L'HERITIER, qui m'a aidé par d'utiles et bienveillantes suggestions et qui a bien voulu présider le jury de cette thèse, j'exprime le témoignage de ma respectueuse reconnaissance.

Ce travail n'a pu être mené à bien que grâce à l'aide constante et efficace de collaborateurs que je remercie.

Je souhaite réserver une place particulière à Monsieur le Professeur G. RIZET qui est à l'origine même de ce travail commencé en équipe. Je lui suis de plus redevable des conseils et des critiques constructives qu'il a su me prodiguer tout au long de cette étude et tout particulièrement de l'aide qu'il m'a apportée lors de la rédaction de ce mémoire. Je suis heureux de lui exprimer ici mon admiration et ma très vive et très sincère reconnaissance.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546604_0072

S O M M A I R E

	Pages
INTRODUCTION	3
CHAPITRE I - LA STRUCTURE GENETIQUE DE LA SERIE 19	8
A - LA CARTE GENETIQUE	10
a) Etablissement d'une première carte	10
b) Localisation de l'ensemble des sites	16
c) Discussion et conclusion	21
B - LES PHENOMENES DE COMPLEMENTATION	22
C - LA NON ADDITIVITE DES FREQUENCES DE RECOMBINAISON	24
D - LES MODALITES DE LA RECOMBINAISON	28
a) La répartition des deux modalités de la recombinaison	28
b) Les modalités de la recombinaison dans les croisements A x B et A x C	34
c) Conclusion	37
E - LES PHENOMENES DE POLARITE	38
F - DISCUSSION ET CONCLUSION	42
CHAPITRE II - L'ANALYSE DES PHENOMENES DE RECOMBINAISON	45
A - INTRODUCTION	45
B - LES PHENOMENES DE CONVERSION	45
a) Fréquence des conversions à divers niveaux du locus 19	47
b) Dimension des conversions	51
c) L'existence de conversion au niveau de déficiences.	55
d) Variation de la fréquence des conversions en un site.	57
e) Conclusions.	62

C - LES RELATIONS ENTRE CROSSING-OVER ET CONVERSION 63

a) Etude des croisements A.B x C et A x B.C 64
b) Etude des croisements A.C x B 69
c) Conclusion 71

D - CONCLUSION DU CHAPITRE II

CHAPITRE III - DISCUSSION ET CONCLUSION 73

I - NON ADDITIVITE DES FREQUENCES DE RECOMBINANTS SAUVAGES 73

II - LE PHENOMENE DE CONVERSION 76

a) Fréquences des conversions en un site 76
b) Dimension des conversions 78
c) Polarité des conversions 79

III - NOTION DE POLARON ET DE STRUCTURE DE LIAISON; LE CONCEPT DE LA RECOMBINAISON 83

RESUME 100

BIBLIOGRAPHIE 105

I N T R O D U C T I O N

Jusqu'à une période très récente, en dehors de quelques cas d'allèles multiples connus depuis longtemps, chaque gène n'était défini le plus souvent que par deux formes alléliques distinctes: la forme sauvage et la forme mutée. La situation a changé radicalement lorsqu'il a été possible, d'une part d'obtenir un grand nombre de mutants d'un type particulier (dans le cas des mutants biochimiques notamment) et d'autre part d'utiliser des organismes à pouvoir de résolution très élevé chez lesquels des populations énormes pouvaient être analysées. Le gène est alors devenu, dans tous les cas, une unité compliquée dont il était alors possible d'étudier la structure.

Cela consistait surtout à rechercher et à utiliser la recombinaison entre allèles dont la caractéristique la plus évidente était la rareté. Ce faisant, on pouvait espérer résoudre en même temps deux problèmes apparemment différents mais en réalité très liés: celui de la "structure du gène" et celui du "mécanisme de la recombinaison".

Posé de cette manière ce type d'étude requiert pour être vraiment efficace des organismes à caractéristiques assez contradictoires. Il faudrait d'une part faire une étude quantitative des recombinaisons ce qui implique un énorme pouvoir de résolution. Il faudrait par ailleurs pouvoir recueillir tous les éléments résultant d'une recombinaison, ce qui ne peut guère être atteint que par l'analyse génétique des tétrades: cela revient donc à déceler et à analyser des tétrades extrêmement rares que dans la plupart des cas on ne sait pas reconnaître.

Aucun organisme ne parait présenter l'ensemble de ces propriétés et les études réalisées concernent en fait l'un ou l'autre élément

du problème selon les particularités de l'organisme envisagé. Les virus offrent un pouvoir de résolution exceptionnellement élevé qui a été utilisé en particulier par BENZER (1962) dans son étude du gène RIIA chez le phage T4. Ceci a permis de mettre en évidence deux notions capitales: la linéarité du gène et la possibilité de recombinaisons entre sites mutants extrêmement voisins (de l'ordre du nucléotide). Chez les Champignons tels que Aspergillus nidulans, Neurospora crassa et Saccharomyces cerevisiae, au moins dans le cas des mutants biochimiques, on trouve également un pouvoir de résolution très élevé. Cela revient à sélectionner les prototrophes même lorsqu'ils sont très rares. Toutefois dans aucun de ces cas il n'est possible économiquement d'obtenir la totalité des éléments provenant d'une recombinaison.

Cette recherche a cependant été entreprise dans le cas de Neurospora crassa en particulier où de très nombreuses tétrades ont été analysées dans le but de rechercher celles qui contenaient des recombinants. C'est le cas en particulier des recherches de MITCHELL (1955) qui au niveau du locus "pdx" a montré que ces recombinants résultaient d'une recombinaison non réciproque d'une conversion. C'est également le cas de CASE et GILES (1958-1964) qui ont trouvé au sein du locus "pan$_2$" les deux types de recombinaison crossing-over et conversion. Quelle que soit l'étendue de telles recherches il est clair qu'avec de tels organismes il y a impossibilité de complèter la précision apportée par l'analyse des tétrades par l'étude quantitative des recombinaisons réciproques ou non.

De telles recherches impliquent manifestement qu'on puisse d'abord sélectionner les tétrades intéressantes. C'est ce que permettent non plus les mutants biochimiques, mais les mutants morphologiques d'ascospores qui conduisent à des ségrégations visibles dans les tétrades, au moins dans le cas des recombinants sauvages. Cette possibilité est actuellement réalisée chez plusieurs organismes Sordaria fimicola (OLIVE, 1959), Ascobolus immersus (RIZET et al.,1960) et plus récemment Podospora anserina (MARCOU et PICARD, 1967).

Aucun de ces organismes ne présente un pouvoir de résolution comparable à celui du phage T4 par exemple mais ils ont l'avantage de concilier plusieurs possibilités. Chez Sordaria la structure linéaire de l'asque rend l'analyse plus commode et les sites mutants étudiés se placent sur un segment chromosomique bien marqué. Toutefois le nombre des mutants morphologiques connu est faible. On retrouve les mêmes avantages chez Podospora où l'on connait de nombreux mutants au même locus et où il est possible de faire très simplement les études de complémentation (PICARD, 1966). Chez Ascobolus on sait que la mutation à de nombreux loci conduit à des spores incolores et pour plusieurs d'entre eux on connait de nombreux mutants. Cette situation est celle que nous avons développée au laboratoire lorsque nous avons commencé nos recherches sur cet organisme avec plusieurs autres chercheurs (RIZET et al., 1960). Plusieurs "séries" de mutants à spores incolores ont été analysées conjointement et le travail qui va suivre concerne le groupe que nous appelons la "série 19".

Pour bien comprendre le sens de cette étude, il n'est pas inutile de rappeler brièvement les résultats déjà acquis dans le cas d'un locus moins complexe, la "série 46" (LISSOUBA, 1961). On a décelé au niveau de ce locus l'existence d'un segment chromosomique où les recombinants ne correspondent qu'à des conversions. Ces conversions sont en outre "polarisées": dans les divers croisements, elles intéressent celui des deux sites qui se localise, par exemple, le plus à droite sur la carte factorielle orientée (LISSOUBA et RIZET, 1960). Les auteurs appelèrent cette structure "polaron" pour évoquer sa caractéristique principale et considérèrent le polaron comme une unité génétique.

Outre cela, l'un des mutants de cette série, localisé à l'une des extrémités de la carte factorielle, montre une propriété particulière qui interdit de le situer sur le polaron défini ci-dessus: les recombinants sauvages issus de croisements le concernant proviennent soit de conversion soit de crossing-over. Ce résultat évoquait la présence d'une région particulière, la "structure de liaison", située

à l'extrémité du polaron, où se localiseraient les crossing-over (LISSOUBA, 1961).

Les notions de polaron et de structure de liaison, discutées depuis par ROSSIGNOL (1964), permettaient de rendre compte des premiers résultats obtenus sur la série 19 (RIZET, LISSOUBA et MOUSSEAU, 1960). Elle serait constituée de deux polarons adjacents réunis par une structure de liaison. On se trouvait donc dans une situation très simple constituée par deux unités génétiques successives l'une et l'autre bien marquées et reliées par une structure où tous les crossing-over se localiseraient. C'est du moins avec cette hypothèse de travail que nous avons poursuivi l'analyse du locus 19.

De nombreux sites ont été ajoutés aux marqueurs primitivement utilisés pour aboutir à une carte relativement précise. La possibilité d'obtenir des double-mutants variés a permis une analyse beaucoup plus approfondie des phénomènes de recombinaison et des propriétés de la région considérée comme structure de liaison. Un soin particulier a été apporté à la recherche des caractéristiques des phénomènes de conversion. La possibilité d'obtenir des spores hétérocaryotiques donc de rechercher des complémentations a permis de comparer les unités précédemment définies à l'unité classique de fonction. Nous avons abcuti de cette manière à un grand nombre de données relativement cohérentes que nous avons eu à confronter avec le schéma originel.

Sauf cas très particuliers, envisagés séparément chaque fois que cela sera utile, les techniques utilisées : culture, isolement de souches, analyse de tétrades... ont déjà été exposées plusieurs fois (loc.cit.). Nous n'y reviendrons pas et nous nous bornerons à l'exposé du travail expérimental.

Le chapitre I tire son unité du type des croisements réalisés qui sont tous bifactoriels. De tels croisements suffisent à l'établissement d'une carte, à la recherche des modalités de la recombinaison,

à la mise en évidence de la polarité et à l'analyse fonctionnelle du locus.

Dans le chapitre II sont groupés les quelques points qui ont fait l'objet d'une analyse particulièrement approfondie, quel que soit le type de méthode utilisée. Il s'agit essentiellement de l'étude des conversions et des rapports entre les deux modalités de la recombinaison. La partie la plus fouillée de la discussion (chapitre III) consiste à discuter le modèle primitif à la lumière des faits rapportés.

C H A P I T R E I

LA STRUCTURE GENETIQUE DE LA SERIE 19

La culture en laboratoire de l'ascomycète hétérothallique Ascobolus immersus et l'obtention de croisements fertiles produisant des descendances importantes ne posent guère de problèmes qui n'aient été résolus (RIZET et al., 1960). En particulier les méthodes d'analyse de tétrades et d'étude de la complémentation ont été décrites (LISSOUBA, 1961; ROSSIGNOL, 1964).

La forme sauvage de ce champignon possède des ascospores colorées en brun-rouge. Il se produit spontanément des mutants correspondant à des spores incolores. Il est aisé de repérer par simple observation de tels mutants lorsqu'ils apparaissent dans la descendance d'un croisement réalisé entre deux souches sauvages de signe compatible.

Les quelques 2.500 mutants spontanés à spores blanches recueillis correspondent à des sites localisés dans des régions très différentes du génome. Dans chacune de ces 20 à 30 régions les sites mutants sont extrêmement proches les uns des autres. Il doit s'agir de loci plus ou moins complexes. Les mutants localisés dans une même région constituent ce que nous appelons une série et que nous désignons par le numéro du premier mutant trouvé.

Notre étude porte sur la série 19 comprenant 51 mutants. Quarante neuf produisent des spores toujours incolores. Les spores des deux autres mutants, 270 et 1794, fréquemment incolores, présentent parfois

une teinte rosée, le caractère incolore est dans ce cas à pénétrance variable.

Trente deux de ces mutants ont été utilisés, dont seize ont fait l'objet d'études très étendues. Onze d'entre eux jalonnent correctement le segment correspondant à la série; les cinq autres se présentent comme des déficiences d'importance variée utilisés en particulier pour préciser l'ordre des sites.

Aucun des mutants choisis n'a montré de réversion dans les croisements "mutant x mutant", bien que chaque descendance observée soit toujours au moins égale à 2.10^5 tétrades. En outre, l'étude de la structure génétique des nombreuses tétrades (voir tabl. V et V' pages 29 - 31) vérifie ce fait, puisque là de très nombreuses descendances issues de back-cross ont été observées. Cela ne démontre pas absolument l'absence de réversion; mais si celles-ci se produisent, leur fréquence sera toujours trop faible pour modifier les résultats qui seront rapportés. Le fait d'avoir choisi presque systématiquement des mutants à "spores incolores", alors qu'il existe des formes de dépigmentation plus discrètes mais beaucoup plus difficiles à distinguer de la forme sauvage, peut avoir conduit à ne recueillir que ceux ayant une certaine "dimension" (voir fig.II page 17).

Le premier chapitre concerne essentiellement toutes les informations qu'il a été possible de tirer de l'analyse des très nombreux croisements bifactoriels entre mutants différents. Cinq aspects principaux sont envisagés. Une carte génétique du segment correspondant à la série est construite; les phénomènes de complémentation sont étudiés; une non-additivité généralisée des fréquences de recombinaison y est établie; les deux modalités de la recombinaison crossing-over et conversion ainsi que leurs rapports, y sont recherchés; enfin la polarité du segment fait l'objet d'une analyse approfondie.

A - LA CARTE GENETIQUE.

La descendance de croisements réalisés entre deux souches mutantes d'une même série est généralement constituée d'une grande majorité d'asques à huit spores incolores (asque 8:0) et d'une fraction faible mais variable selon les croisements d'asques contenant six spores incolores et deux spores colorées (asque 6:2); exceptionnellement quelques croisements produisent également quelques asques 4:4. Dans tous les cas il s'agit de croisements entre hétéroallèles, mais nous avons observé aussi des croisements entre homoallèles que nous serons amenés à comparer. Le qualificatif "homoallèle" est là purement opérationnel; il implique seulement que les deux modifications de la structure sauvage correspondant à l'un et l'autre des mutants homoallèles ont une partie commune. Nous verrons ultérieurement que dans la majorité des cas, elles ne sont pas strictement identiques (voir fig.II, page 17).

Nous déterminerons d'abord la séquence des sites correspondant aux mutants les plus couramment utilisés. Nous essayerons ensuite de placer sur cette première carte les sites correspondant aux autres mutants.

a) Etablissement d'une première carte.

Les seize mutants les plus fréquemment utilisés sont les suivants: 19, 49, 55, 60, 119, 158, 176, 270, 324, 1028, 1075, 1637, 1656, 1802, 1844 et 2073. A quelques exceptions près, ils ont été croisés deux à deux de toutes les manières possibles. Des descendances substantielles ont été dénombrées et on a recherché dans chacune d'elles les tétrades contenant les spores sauvages (asques 6:2 et éventuellement 4:4). Toutes ces informations sont groupées dans le tableau I. Le tableau I' concerne les mêmes résultats, mais nous y mentionnons uniquement pour chaque croisement la fréquence des asques contenant des recombinants sauvages (pour 10^3 tétrades) ainsi que son intervalle de confiance.

TABLEAU I - Résultats de l'analyse de la descendance de croisements entre mutants de la série 19. Les trois chiffres de chaque case correspondent respectivement, pour un même croisement, aux asques 8:0, 6:2 et 4:4. Dans le cas où l'on trouve uniquement ou presque exclusivement des asques 8:0, le chiffre le concernant est un chiffre minimum résultant d'une évaluation (comptage d'un quart de la surface de chaque boîte de projection).

	49	270	60	2073	1028	1656	72	1637	158	19	1844	1075	324	55	1802	119/176
49	200.000 0 0	104.000 0 0	83.650 0 0	259.412 0 0	203.200 0 0	111.600 0 0	121.500 0 0	8.543 2 0	206.500 0 0	265.400 1 0	41.356 7 0	11.325 2 0	15 321 6 0	12.384 22 0	18.921 11 0	202.500 0 0
270		200.000 0 0	128.000 9 0	108.000 3 0	61.271 3 0	58.490 7 0	5.456 8 0	5.979 17 0	2.269 7 0	30.778 89 0	5.063 37 0	-	8456 90 0	4.039 48 0	4.751 52 0	20.729 47 0
60			200.000 0 0	170.150 0 0	181.000 1 0	57.000 7 0	21.580 4 0	8.543 4 0	15.390 24 0	21.699 26 0	22.211 45 0	-	8.545 72 0	5.466 100 1	6.822 51 0	25.654 5 0
2073				200.000 0 0	149.350 1 0	89.660 7 0	4.936 3 0	4.020 2 0	4.518 6 0	21.460 22 0	29.130 122 0	-	2.925 20 0	19.643 193 0	3.529 27 0	112.533 28 0
1028					200.000 0 0	57.160 8 0	10.830 5 0	9.335 6 0	2.166 2 0	40.199 9 0	9.863 37 0	-	11.896 92 0	4.370 33 0	4.347 45 0	27.909 8 0
1656						200.000 0 0	30.320 11 0	11.203 8 0	46.744 14 0	70.541 8 0	6.328 13 0	-	6.511 18 0	17.040 70 0	3.250 15 0	232.800 0 0
72							200.000 0 0	184.900 0 0	223.160 0 0	184.000 0 0	-	-	4.821 3 0	6840 4 0	7.843 7 0	110.925 0 0
1637								200.000 0 0	22 700 2 0	99.500 0 0	75.700 0 0	99.920 0 0	75.625 1 0	22.760 2 0	128.400 2 0	108.700 0 0
158									200.000 0 0	251.000 0 0	78.150 4 0	79.750 0 0	11.641 12 0	13.640 25 0	21.376 31 0	94.140 0 0
19										200.000 0 0	160.203 10 0	103.500 0 0	6.430 7 0	15.100 26 0	13645 16 0	292.393 0 0
1844											200.000 0 0	96.700 0 0	29.742 10 0	14.740 4 0	22.720 3 0	136.000 0 0
1075												200.000 0 0	97.500 0 0	58.900 2 0	138.200 1 0	115.200 0 0
324													200.000 0 0	150.230 1 0	181.400 0 0	145.033 0 0
55														200.000 0 0	198.500 0 0	416.243 0 0
1802															200.000 0 0	
119/176																200.000 0 0

La lecture du tableau I révèle que les cinq mutants 49, 119, 176, 1075, et 1637 sont homoallèles de plusieurs hétéroallèles. Nous les considérons comme des déficiences. Les deux mutants d'origine indépendante 119 et 176 fournissent exactement le même spectre de résultats; rien n'indique que ces déficiences soient différentes et nous avons groupé les résultats les concernant.

En dehors des croisements intéressant les déficiences d'autres exemples d'homoallèles sont mentionnés dans le même tableau. Aucun recombinant sauvage n'a été observé dans les croisements 19 x 158, 55 x 1802, 60 x 2073 et 324 x 1802. Le segment ne se trouve ainsi jalonné que par sept sites distincts correspondant à un, deux ou même trois mutants (55, 324 et 1802).

Pour déterminer l'ordre de ces sites on peut utiliser soit des fréquences de recombinants sauvages issus de croisements à deux facteurs, soit le fait que les déficiences ne recouvrent pas les mêmes sites ce qui donne la possibilité de les placer les uns par rapport aux autres (BENZER, 1959), soit enfin les résultats des croisements à trois facteurs permettant en principe de déterminer le site médian (CHASE and DOERMAN, 1958).

La position des déficiences 49, 119 et 176 permet de répartir les sept sites en trois groupes. Les sites 158 et 1656 sont les seuls sites communs aux déficiences: il s'agit donc de sites contigus. Le mutant 49 fournit des recombinants lorsqu'on le croise avec les mutants 19, 1844 et 55 (ou 324 ou 1802). Comme 19 et 158 sont homoallèles, tous ces sites doivent donc se placer sur la figure I à droite de 158. Une situation symétrique existe pour les déficiences 119 - 176 et les sites 270, 60 (ou 2073) et 1028 dont la position ne se conçoit alors qu'à gauche de 1656. Les déficiences 1075 et 1637 recouvrent les sites 19 et 1844, l'une d'elles 1075 recouvre également 324. Ceci implique que 1844 est situé entre 19 et le groupe 55, 324, 1802. Il reste donc à déterminer la séquence des sites de gauche 270, 60 (ou 2073) et 1028 tous recouverts par la seule déficience 49.

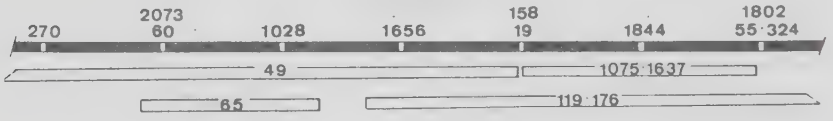
TABLEAU I bis - Fréquence (pour 10^3 tétrades et accompagnée de son intervalle de confiance) dans les divers croisements à deux facteurs des asques contenant des recombinants sauvages.

	270	60	2073	1028	1656	72	1637	158	19	1844	1075	324	55	1802	119/176
49	0	0	0	0	0	0	0,23 0,03 à 0,85	0	0,0004 0,00001 à 0,0021	0,17 0,068 à 0,35	0,18 0,02 à 0,64	0,39 0,14 à 0,85	1,24 1,11 à 2,68	0,58 0,29 à 1,04	0
270		0,07 0,032 à 0,13	0,027 0,006 à 0,081	0,049 0,01 à 0,14	0,12 0,037 à 0,25	1,47 0,63 à 2,88	2,84 1,64 à 4,57	3,08 1,23 à 6,34	2,88 2,32 à 3,56	7,26 5,12 à 9,98	-	10,53 8,56 à 13,08	11,74 8,66 à 15,56	10,82 8,08 à 14,20	2,26 1,67 à 3,01
60			0	0,006 0,0001 à 0,03	0,12 0,05 à 0,25	1,85 0,5 à 4,75	0,47 0,13 à 1,20	1,56 1,00 à 2,32	1,20 0,78 à 1,76	2,02 1,48 à 2,70	-	8,35 6,53 à 10,52	18,32 14,82 à 22,2	7,42 5,53 à 9,75	0,26 0,63 à 0,45
2073				0,007 0,0001 à 0,03	0,08 0,031 à 0,16	0,61 0,12 à 1,77	0,50 0,06 à 1,79	1,33 0,49 à 2,89	1,02 0,64 à 1,55	4,18 3,41 à 5,09	-	6,79 4,18 à 10,49	9,73 8,00 à 11,95	7,59 5,00 à 11,05	0,25 0,16 à 0,36
1028					0,14 0,06 à 0,28	0,46 0,15 à 1,08	0,64 0,24 à 1,40	0,92 0,11 à 3,33	0,22 0,1 à 0,43	3,74 2,64 à 5,14	-	7,67 6,19 à 9,41	7,49 5,16 à 10,52	10,25 7,49 à 13,68	0,29 0,12 à 0,56
1656						0,36 0,18 à 0,65	0,71 0,31 à 1,41	0,30 0,16 à 0,42	0,11 0,05 à 0,22	2,05 1,09 à 3,52	-	2,76 1,62 à 4,37	4,09 3,19 à 5,17	4,59 2,54 à 7,63	0
72							0	0	0	-	-	0,62 0,13 à 1,82	0,58 0,16 à 1,50	0,89 0,36 à 1,84	0
1637								0,09 0,011 à 0,32	0	0	0	0,013 0,003 à 0,073	0,09 0,01 à 0,32	0,016 0,0017 à 0,056	0
158									0	0,05 0,014 à 0,13	-	1,03 0,053 à 1,80	1,83 1,18 à 2,70	1,45 0,98 à 2,06	0
19										0,062 0,029 à 0,115	0	1,09 0,44 à 2,24	1,72 1,18 à 2,51	1,17 0,66 à 1,91	0
1844											0	0,34 0,16 à 0,62	0,27 0,074 à 0,69	0,13 0,027 à 0,39	0
1075												0	0,034 0,004 à 0,12	0,007 0,0002 à 0,04	0
324													0,007 0,0002 à 0,035	0	0
55														0	0
1802															-

C'est l'utilisation de croisements à trois facteurs qui nous a permis de préciser cet ordre. Nous avons croisé chacun de ces mutants avec un ou plusieurs des double-mutants suivants: 60.19, 270.19, 1028.19 et 1656.19 (voir page 29). Les descendances issues des croisements 270.19 x 60, 270.19 x 1028, 270.19 x 1656 et 60.19 x 1028 ne contiennent pas de recombinants sauvages alors que quelques asques 6:2 ont été observés dans celles correspondant à 60.19 x 270, 1028.19 x 270, 1656.19 x 270 et 1028.19 x 60. Les résultats relatifs à 270.19 x 1028 (absence de recombinants sauvages) et 1028.19 x 270 (présence d'asques 6:2) suggère l'ordre 270---1028---19, puisque s'il en est ainsi l'apparition des spores sauvages correspond à l'événement le plus simple. Tous les résultats que nous avons rapportés ci-dessus conduisent à adopter cette séquence; de plus ils ne se comprennent que si 1028 est contigu à 1656.

On aboutit ainsi à la figure I où l'ordre des sites est sans ambiguité. On remarquera d'ailleurs que cet ordre, aux déficiences

FIGURE I



près, est celui retenu dans les tableaux I et I'. Cette disposition permet de vérifier directement dans les croisements à deux facteurs que la fréquence des asques contenant des "recombinants" est d'autant plus élevée que les mutants en cause sont plus éloignés. Cette méthode quantitative permet ainsi de confirmer l'ordre établi. C'est ce même ordre qui a été décrit précédemment avec un vocabulaire différent mais toujours commode (LISSOUBA, MOUSSEAU, RIZET et ROSSIGNOL, 1962): les sites avaient été répartis en trois groupes "A", "B" et "C". Le groupe A correspond au segment 270---1656, le groupe B à 158---1844 et le groupe C contient les sites 55, 324 et 1802.

TABLEAU II$_A$ - Résultats de l'analyse de la descendance de croisements entre mutants du groupe "A". Les trois chiffres de chaque case correspondent respectivement, pour un même croisement, aux asques 8:0, 6:2 et 4:4. Le chiffre concernant les asques 8:0 est un chiffre minimum résultant d'une évaluation (comptage d'un quart de la surface de chaque boîte de projection).

Mutants :	270	65	60	2073	1510	1028	1467	1130	1678	1656 -x-	119/176	158
49 -x-	104.000 0 0	93.365 0 0	83.650 0 0	259.412 0 0	162.060 0 0	203.200 0 0	154.000 0 0	101.960 0 0	54.800 0 0	111.600 0 0	202.500 0 0	206.500 0 0
270	200.000 0 0	86.700 1 0	128.000 9 0	108.440 3 0	66.900 5 0	61.271 3 0	42.800 10 0	72.364 11 0	35.800 7 0	58.490 7 0	20.729 47 0	2.269 7 0
65		200.000 0 0	111.700 0 0	184.400 0 0	165.500 0 0	107.000 0 0	156.800 0 0	98.300 0 0	18.524 4 0	21.026 4 0	65.997 2 0	2.890 3 0
60			200.000 0 0	170.150 0 0	166.175 0 0	181.000 1 0	166.900 1 0	152.100 3 0	91.860 3 0	57.000 7 0	25.654 5 0	15.390 24 0
2073				200.000 0 0	130.450 4 0	149.350 1 0	164.720 0 0	88.950 2 0	107.150 3 0	89.660 7 0	115.533 28 0	4.518 6 0
1510					200.000 0 0	201.000 0 0	74.300 0 0	61.100 1 0	70.200 5 0	39.100 6 0	4.206 1 0	8.665 3 0
1028						200.000 0 0	140.100 4 0	53.200 2 0	67.320 4 0	57.160 8 0	27.909 8 0	2.166 2 0
1467							200.000 0 0	68.760 5 0	63.856 2 0	65.600 4 0	42.583 5 0	19.732 13 0
1130								200.000 0 0	100.000 0 0	214.500 4 0	15200 1 0	17164 6 0
1678									200.000 0 0	44.300 8 0	19546 2 0	86003 13 0

-x- Plus de 200.000 asques 8:0 issus de croisements entre deux souches de signe compatible de 49 (ou 1656) ont été observés sans qu'il apparaisse de recombinant sauvage.

b) Localisation de l'ensemble des sites.

C'est par commodité qu'à l'origine les divers mutants ont été répartis dans les trois groupes A, B et C dont il vient d'être question. Ils se définissent non seulement par des fréquences de recombinaison très faibles dans les croisements intra-groupes, mais également par les résultats obtenus dans les croisements inter-groupes, qu'il s'agisse des fréquences ou du mécanisme des recombinaisons (loc. cit.). En tenant compte de l'ensemble de ces critères les nouveaux sites qu'il s'agit de localiser appartiennent à l'un ou l'autre de ces groupes. Les mutants 65, 1130, 1467, 1510 et 1678 se localisent au niveau du groupe A; 72, 243, 484, 622, 865, 900, 1292, 1768 et 1830 dans le groupe B et les mutants 218 et 1634 dans le groupe C. Les descendances de tous les croisements intra-groupes possibles ont été observées. Les résultats sont consignés dans les tableaux II_A, II_B et II_C qui correspondent respectivement aux groupes A, B et C.

A la lecture de ces tableaux, quel que soit le groupe envisagé, les fréquences de recombinaison se révèlent toujours très faibles et, au moins en tenant compte des effectifs étudiés, les homoallèles sont fréquents. A deux exceptions près 622, 865 (B) chaque mutant a au moins un homoallèle et selon le critère déjà retenu plusieurs se présentent comme de petites déficiences.

On peut utiliser ces relations d'homoallèlisme pour déterminer la position des divers sites mutants dans chacun des groupes.

L'analyse des résultats rapportés dans le tableau II_A permet de proposer la disposition des onze mutants qui est schématisée dans la partie gauche de la figure II. La place de 1028 à gauche de 1467 est choisie parce que les fréquences des recombinants sauvages dans les croisements entre 1028 et chacun des mutants 158, 55 et 324 (0,92 o/oo, 7,49 o/oo et 7,67 o/oo) sont supérieures à celles des croisements entre 1467 et ces mêmes mutants (0,65 o/oo, 4,45 o/oo et 4,45 o/oo). Cette disposition permet de prévoir que le croisement

FIGURE II

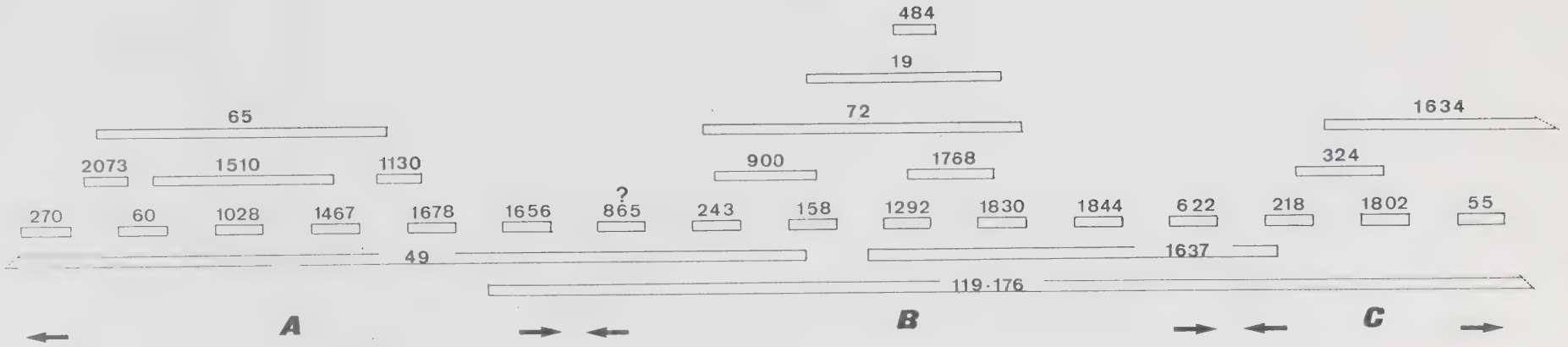

484
19
65
72
1634
2073
1510
1130
900
1768
324
?
270
60
1028
1467
1678
1656
865
243
158
1292
1830
1844
622
218
1802
55
49
1637
119·176
A
B
C

TABLEAU II_B - Résultats de l'analyse de la descendance de croisements entre mutants du groupe "B". Les trois chiffres de chaque case correspondent respectivement, pour un même croisement, aux asques 8:0, 6:2 et 4:4. Le chiffre concernant les asques 8:0 est un chiffre minimum résultant d'une évaluation (comptage d'un quart de la surface de chaque boîte de projection).

	72	243	158	900	19	484	1292	1768	1830	622	1844	1637	119/176
865 -x-	271.700 7 0	68.100 9 0	132.250 9 0	82.025 4 0	151.700 2 0	212.800 4 0	88.500 3 0	76.100 4 0	40.000 1 0	49.100 3 0	27.000 6 0	246.700 3 0	187.230 0 0
72	200.000 0 0	116.900 0 0	223.160 0 0	315.200 0 0	184.000 0 0	277.600 0 0	169.900 0 0	155.500 0 0	45.000 0 0	11.350 6 0		184.000 0 0	110.925 0 0
243		200.000 0 0	119.300 3 0	236.400 0 0	97.300 3 0	284.800 3 0	69.900 4 0	72.420 4 0	58.500 2 0	128.500 4 0	66.600 7 0	89.200 2 0	
158			200.000 0 0	135.000 0 0	251.000 0 0	173.650 3 0	80.600 6 0	20500 4 0	41.142 5 0	41.142 5 0	78.150 4 0	54.400 7 0	94.140 0 0
900				200.000 0 0	41.000 0 0	340.100 2 0	236.200 4 0	69.420 9 0	20.000 2 0	14.800 3 0	77.250 9 0	83.150 0 0	
19					200.000 0 0	207.600 0 0	204.900 0 0	156.500 0 0	36.000 0 0	90.350 6 0	160.203 10 0	99.500 0 0	292.393 0 0
484						200.000 0 0	163.900 0 0	253.000 0 0	54.000 3 0	50.350 4 0	74.425 5 0	107.500 0 0	
1292							200.000 0 0	266.000 0 0	22.000 1 0	24.300 3 0	79.065 9 0	103.400 0 0	
1768								200.000 0 0	30.000 0 0	25.800 3 0	79.750 2 0	84.300 1 0	
1830									200.000 0 0	44.400 5 0	31.000 2 0	8.740 0 0	
622										200.000 0 0	67.290 13 0	47.500 0 0	186.340 0 0
1844											200.000 0 0	75.700 0 0	136.000 0 0

-x- Plus de 200.000 asques 8:0 issus de croisements entre 2 souches de signes compatibles du mutant 865 ont été observés sans qu'il apparaisse de recombinants sauvages.

2073 x 1467 devrait fournir des recombinants sauvages: or il n'en est apparu aucun parmi 164.720 tétrades. Une seconde ambiguité demeure dans la disposition de ces mutants, elle correspond à la place de 1130 et 1678. On peut les localiser soit à l'extrémité droite, soit à l'extrémité gauche de la déficience 65. La disposition proposée tient compte du fait que dans les croisements entre 1130 (ou 1678) et 19 les fréquences des asques contenant des recombinants sauvages, 0,08 o/oo (ou 0,11 o/oo), sont significativement inférieures à celles calculées à partir des croisements réalisés entre 60 (ou 270) et 19 soit 1,20 o/oo (ou 2,88 o/oo). La déficience 65 montre que 270 ne peut être localisé entre 60 et 1028. C'est une confirmation de la séquence de ces trois sites indiqués dans la figure I.

L'ordre des douze mutants B représentés dans la figure II, est celui qui rend le mieux compte des résultats rassemblés dans le tableau correspondant. La fréquence des asques contenant des recombinants sauvages observés dans la descendance du croisement 622 x 55 (sept asques 6:2 parmi 30.807 tétrades soit 0,23 o/oo) est significativement inférieure aux fréquences calculées à partir des croisements 19 x 55 et 158 x 55 (1,72 et 1,83 o/oo). Cela conduit à placer 622 près de 1844 sans toutefois savoir s'il se situe à gauche ou à droite de ce site. Le croisement 865 x 55 produit 3,7 o/oo d'asques contenant des recombinants sauvages (75 asques 6:2 parmi 20.283 tétrades). La valeur de cette fréquence est significativement plus élevée que les fréquences calculées à partir de 19 x 55 et 158 x 55. Ce résultat permet de situer 865 à gauche de 19/158, mais cette position de 865 fait apparaître une ambiguité. Le croisement 49 x 865 produit en effet des recombinants sauvages (trois asques parmi 29.660 tétrades). Or 49, homoallèle de 158, recouvre donc toute la région située à gauche de 158 où on est conduit à localiser 865. Il est possible aussi de prévoir, si l'on regarde la figure II que le croisement 1768 x 1637 ne produira pas de recombinants sauvages.

TABLEAU II$_C$ - Résultats de l'analyse de la descendance de croisements entre mutants du groupe "C". Les trois chiffres de chaque case correspondent respectivement, pour un même croisement, aux asques 8:0, 6:2 et 4:4. Le chiffre concernant les asques 8:0 est un chiffre minimum résultant d'une évaluation (comptage d'un quart de la surface de chaque boîte de projection).

	1075	1637	218	1634	324	1802	55 -x-
1075	200.000 0 0	99.920 0 0	24.800 0 0	46.000 0 0	97.500 0 0	138.200 1 0	58.900 2 0
1637		200.000 0 0	116.000 0 0	91.600 2 0	75.625 1 0	128.400 2 0	22.760 2 0
218			200.000 0 0	101.250 1 0	55.000 0 0	84.100 2 0	108.100 2 0
1634				200.000 0 0	128.000 0 0	161.000 0 0	98.700 0 0
324					200.000 0 0	181.400 0 0	150.230 1 0
1802						200.000 0 0	198.500 0 0

-x- Plus de 200.000 asques 8:0 issus de croisements entre 2 souches de signes compatibles du mutant 55 ont été observés sans qu'il apparaisse de recombinants sauvages.

Or parmi 84.300 tétrades, il a été vu un asque 6:2. Nous ne pouvons mesurer la valeur de ces ambiguités. Le mutant 82 a été perdu au cours de ce travail. Il se localise au niveau du groupe B de mutants. En effet les croisements entre 82 et les deux mutants du groupe B, 10 et 72, n'ont donné respectivement aucun asque 6:2 parmi 17.460 tétrades et deux asques 6:2 parmi 50.982 tétrades. Les croisements entre 82 et les mutants A, 60 et 65 (10 asques 6:2 pour 4.396 tétrades et cinq asques 6:2 parmi 5.835 asques) ainsi que 82 x 55 (13 asques 6:2 pour 8.673 tétrades) confirment cette localisation.

La disposition des mutants C, suggérée par les résultats résumés dans le tableau IIC, est représentée dans la figure II.

c) Discussion et conclusion.

Le séquence des sept sites principaux (fig.I) a pu être établie sans ambiguité en utilisant des déficiences et à l'aide de croisements à trois facteurs. Elle se trouve confirmée par l'étude des fréquences des asques contenant des recombinants sauvages calculées à partir des divers croisements à deux facteurs. Ces fréquences sont d'autant plus élevées que les deux mutants sont plus éloignés sur la carte des sites. La séquence proposée a donc un très haut degré de vraisemblance.

Déterminer avec précision la disposition des divers mutants d'un même groupe (A, B ou C) est plus délicat. Les fréquences des asques contenant des recombinants sauvages observées dans la descendance des croisements à deux facteurs intra-groupes sont très faibles ou nulles. Elles sont de plus entachées d'une erreur importante car le nombre de ces asques observés est toujours petit. Dans ces conditions un critère aussi simple que la présence ou l'absence de recombinants devient sujet à caution. Notons cependant une information qui nous sera utile ultérieurement, en dehors de 865 et 622 il ne paraît pas y avoir d'ambiguité dans la position des nouveaux sites par rapport aux sept sites principaux.

Une publication antérieure considérait 60 et 1678 comme des homoallèles, ils ont pu être séparés (fig. II), il en est de même pour 55, 324, 1634 et 1802 (fig. II); les mutants 1130, 1028, 484 et 1292 étaient considérés comme des déficiences importantes, leur "dimension" se trouve réduite (LISSOUBA, MOUSSEAU, RIZET et ROSSIGNOL, 1962).

En résumé, le segment chromosomique correspondant à la série 19 est marqué par sept sites dont l'ordre est parfaitement connu. Les positions de 16 autres mutants sont définies par rapport à ces sept sites. Ces données sont tout à fait suffisantes pour qu'une étude de la recombinaison soit faite à partir de ce segment dont nous chercherons tout d'abord s'il correspond ou non à une unité de fonction, un cistron.

B - LES PHENOMENES DE COMPLEMENTATION.

Le caractère spore incolore des spores mutantes ne se traduit apparemment que sur les ascospores elles-mêmes. Aucune différence n'apparait dans le mycélium. L'étude de la complémentation ne peut donc être effectuée simplement qu'à partir de spores contenant les deux génomes (spores doubles), qu'elles soient dicaryotiques ou diploïdes (MOUSSEAU, 1963). De telles spores avaient été décelées dans les croisements intéressant l'une des souches du mutant 19 où on les rencontrait dans des asques à sept spores dont une de grande taille. Toutefois la rareté de ces asques rendrait ce système difficilement utilisable.

L'étude de la complémentation fut rendue plus aisée dès que ROSSIGNOL (1964) eut sélectionné un gène "d" qui, lorsqu'il est présent chez les deux parents, provoque l'apparition dans la descendance de nombreux asques contenant moins de huit spores dont une ou plusieurs de grande taille. Parmi ces asques anormaux on trouve le plus fréquemment des asques contenant sept spores dont une spore double.

C'est en transférant le gène d à l'ensemble de nos mutants que nous avons pu utiliser ce système sur lequel on possède maintenant d'autres informations. On sait en particulier que les spores doubles sont effectivement soit dicaryotiques soit diploïdes, qu'elles contiennent soit deux noyaux de taille normale soit un seul noyau de grande taille (JUPIN, 1965).

L'étude préliminaire de croisements entre une souche sauvage d et plus de 15 mutants de la série 19 portant également le gène d nous a montré qu'au moins 30 % des spores doubles contiennent les deux types nucléaires parentaux: ce sont les "spores hétérogènes" décrites par JUPIN (loc. cit.). Elle nous a montré également que dans tous les cas l'allèle mutant est récessif.

Entre mutants hétéroallèles portant le gène d deux types de croisements ont été effectués. Les croisements mutant x mutant permettent d'obtenir dans les spores doubles les sites mutants en position "trans". La position "cis" vient à partir de croisements double-mutant x sauvage.

Dans le premier cas plus de 160 descendances issues de croisements différents ont été observées et il est clair que chacune d'elles contenait plusieurs centaines de spores doubles hétérogènes. Or jamais la fréquence des spores doubles colorées n'est supérieure à celle attendue par la seule recombinaison entre sites mutants: c'est-à-dire très faible. Ceci ne se conçoit que si les spores doubles contenant deux sites mutants en position "trans" sont de phénotype mutant.

Dans les 12 croisements différents double-mutant x sauvage (270.55 x sauvage, 270.19 x sauvage, 60.19 x sauvage, 60.324 x sauvage, 60.55 x sauvage, 2073.19 x sauvage, 2073.55 x sauvage, 1678.55 x sauvage, 1678.324 x sauvage, 1028.55 x sauvage, 1656.55 x sauvage, 1656.324 x sauvage) les résultats sont tout aussi clairs. Les spores doubles hétérogènes sont toujours colorées. En position "cis" on est toujours conduit au phénotype sauvage.

L'absence de complémentation ne peut être mise en relation avec des anomalies de l'histoire nucléaire de l'asque. Toutes les ségrégations analysées dans les asques à spore double se révèlent normales. Nos résultats confirment à ce sujet ceux de ROSSIGNOL (1964) et JUPIN (1965).

Rien ne s'oppose donc à ce que le segment correspondant à la série 19 représente une seule unité de fonction, un seul cistron. Ajoutons seulement qu'il ne s'agit pas là d'une démonstration absolument inattaquable.

C - LA NON ADDITIVITE DES FREQUENCES DE RECOMBINAISON.

Le segment chromosomique correspondant à la série 19 est marqué par sept sites dont l'ordre est connu (chap. I, A). Nous avons, pour déterminer cet ordre, utilisé les résultats des croisements de chacun des mutants avec cinq déficiences, ainsi que les résultats de croisements à trois facteurs (voir pages 14-66-71). Cela ne permet que de disposer régulièrement les sites le long d'une droite (fig. I). Nous ne nous sommes pas préoccupés de la "valeur" de la fréquence des recombinaisons calculée dans les divers croisements à deux facteurs. Une carte génétique plus fidèle à l'ensemble des résultats devrait en tenir compte. Il suffit pour cela de donner à chaque intervalle une longueur proportionnelle à la fréquence des recombinants que l'on y observe. Pour qu'une telle représentation ait un intérêt, il est bien entendu nécessaire que les fréquences de recombinaison soient additives.

Si l'on envisage les trois sites 60, 19 et 55, donc les croisements 60 x 19, 19 x 55 et 60 x 55, on aboutit pour les asques 6:2 aux fréquences suivantes 1,2; 1,7 et 18,3 o/oo (Tabl. I'). Il est clair que la fréquence correspondant au segment entier 60---55 est largement supérieure à la somme des distances partielles. On remarquera que cette anomalie apparaît toutes les fois que l'on s'intéresse à

TABLEAU III - Valeur du paramètre " I " défini page 17 pour des intervalles de dimensions variées. Les fréquences sont données pour 10^3 tétrades.

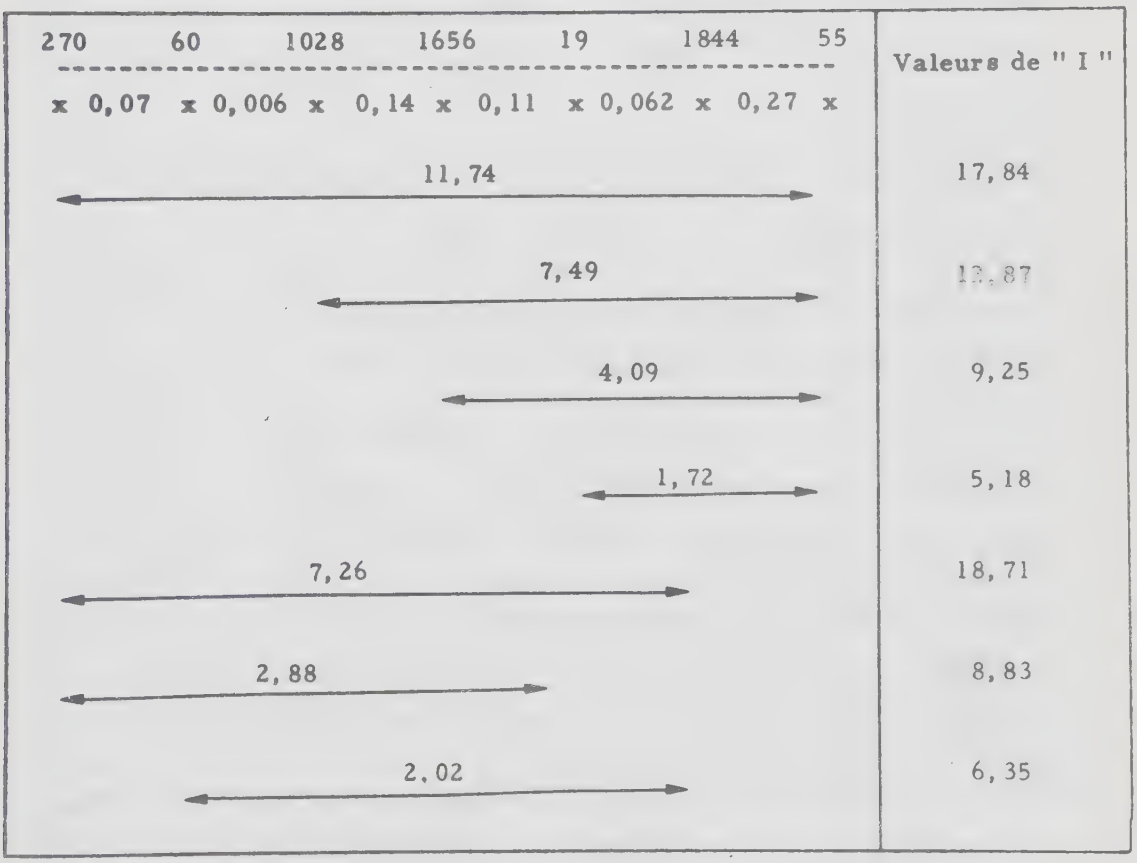


TABLEAU IV - Valeur du paramètre " I " défini page 17 pour un intervalle donné, découpé en un nombre varié de sous-intervalles.

270 60 1028 1656 19 1844 55	Nb de sous Intervalles	Valeurs de "I"
11, 74		
0, 07 — 0, 006 — 0, 14 — 0, 11 — 0, 062 — 0, 27	6	17, 84
0, 049 — 0, 14 — 0, 11 — 0, 062 — 0, 27	5	18, 60
0, 07 — 0, 006 — 0, 22 — 0, 062 — 0, 27	5	18, 69
0, 07 — 0, 006 — 0, 14 — 0, 11 — 1, 72	5	5, 74
0, 049 — 0, 14 — 0, 11 — 1, 72	4	5, 81
0, 07 — 0, 12 — 0, 11 — 1, 72	4	5, 81
0, 049 — 0, 22 — 1, 72	3	5, 90
0, 07 — 1, 20 — 1, 72	3	3, 93
0, 049 — 3, 74 — 0, 27	3	2, 89
0, 027 2073 — 9, 73	2	1, 20
0, 049 — 7, 49	2	1, 56
0, 12 — 4, 09	2	2, 79
2, 88 — 1, 72	2	2, 55
7, 26 — 0, 27	2	1, 56

trois sites localisés dans au moins deux des trois groupes de mutants A, B et C. Cette particularité est plus ou moins marquée selon l'intervalle que l'on considère et le nombre des sites par lesquels on le divise. Il apparaît au niveau de ce segment une variation de la probabilité d'échange dans une région donnée selon le croisement considéré.

On peut étudier le phénomène d'une manière plus systématique en envisageant pour chaque groupe d'au moins trois sites le rapport "I" entre la distance totale et la somme des distances partielles. En utilisant les résultats du tableau I', 156 valeurs de "I" ont été ainsi calculées, dont on trouvera des exemples dans les tableaux III et IV. Le tableau III fait apparaître l'influence de la longueur du segment envisagé sur le résultat obtenu; la non additivité est d'autant plus forte que le segment est plus important. Le tableau IV intéresse la totalité du segment correspondant à la série, divisé en sous-segments plus ou moins nombreux, ou divisé en deux segments égaux ou inégaux. La non additivité est d'autant plus forte que le nombre des sous-segments est élevé; dans le cas de deux sous-segments seulement elle paraît maximale lorsque ces deux sous-segments sont sensiblement égaux.

Dans 150 cas sur 156 les valeurs de "I" sont supérieures à 1. La valeur la plus élevée trouvée est égale à 21, dix huit sont supérieures à dix, quarante neuf supérieures à cinq et cent quatre supérieures à deux. Les six exceptions (270-60-55, I = 0,54 ; 60-1028-1844 I = 0,59 ; 1028-1656-19, I = 0,88 ; 60-1028-1802, I = 0,72 ; 270-1028-1802 , I = 0,73 et 2073-1028-324, I = 0,88) ont en commun de n'utiliser que trois sites dont deux appartiennent au groupe de mutants A. On se trouve ainsi placé dans la plupart de ces cas dans la situation où les deux sous-segments sont très inégaux.

Dans tous les cas où l'on envisage un segment d'une dimension suffisante ou qui déborde nettement le groupe des sites A, on observe une non additivité marquée; la plus grande distance (mesurée par la fréquence des recombinants sauvages) est toujours supérieure à la somme des distances partielles.

Nous reviendrons ultérieurement sur ce phénomène (voir page 57) mais dès maintenant il est clair que dans cette situation il n'est guère possible d'améliorer la carte représentée par la figure I; c'est-à-dire de donner à chaque intervalle une valeur qui soit le reflet de la véritable distance. Cette dernière ne serait d'ailleurs concevable que si l'unité de recombinaison était unique et bien définie. Nous allons voir maintenant que selon les cas les asques 6:2 utilisés dans le calcul des fréquences sont d'origines variées.

D - LES MODALITES DE LA RECOMBINAISON.

Les analyses d'asques 6:2, issus de croisements mutant x mutant, et réalisées antérieurement chez Ascobolus immersus, soit sur d'autres loci soit sur le locus 19 ont montré que les recombinants sauvages résultaient de deux mécanismes. Certains proviennent d'un crossing-over: dans ce cas la tétrade contient un produit double-mutant et on observe une ségrégation 2:2 au niveau de chacun des deux couples de sites. Les autres résultent de conversions: l'asque ne contient aucun produit double-mutant et l'un des couples de sites montre une ségrégation 1:3. A partir de certains croisements tous les recombinants sauvages résultent de conversion: c'est le cas en particulier de la plupart des croisements intéressant le locus 46 (LISSOUBA, 1961; ROSSIGNOL, 1964). Les recombinants sauvages issus d'autres croisements résultent pratiquement tous de crossing-over (RIZET et ROSSIGNOL, 1966). Mais dans de très nombreux cas un même croisement fournit des recombinants sauvages ayant selon les tétrades l'une ou l'autre origine (loc. cit.).

Nous verrons d'abord comment se répartissent les deux modalités dans l'ensemble des croisements à deux facteurs réalisés à partir de la série 19.

a) La répartition des deux modalités de la recombinaison.

Nous envisagerons tout d'abord les croisements impliquant ce que nous avons considéré comme les sept principaux sites (fig.I).

TABLEAU V - Répartition des crossing-over et des conversions dans les croisements mutant x mutant intéressant les sept sites principaux du locus 19.

n°	Croisement	Nb d'asques 6:2	Nb d'asques 6:2 issus de crossing-over	de conversion	Parent majoritaire Gauche	droit
	A x A					
1	270 x 60	8	0	8	0	8
2	270 x 1656	8	0	8	0	8
3	60 x 1656	5	0	5	0	5
	A x B					
4	270 x 19	24	6	18	0	18
5	270 x 158	9	2	7	2	5
6	270 x 1844	4	1	3	0	3
7	60 x 19	20	13	7	1	6
8	60 x 158	8	4	4	0	4
9	2073 x 19	6	6	0	-	-
10	2073 x 158	12	3	9	7	2
11	2073 x 1844	18	8	10	10	0
12	1028 x 19	6	6	0	-	-
13	1028 x 243	14	3	11	11	0
14	1028 x 1844	18	6	12	12	0
	A x C					
15	270 x 55	47	3	44	35	9
16	270 x 324	38	4	34	26	8
17	60 x 55	134	88	46	41	5
18	2073 x 55	25	7	18	18	0
19	1028 x 55	35	12	23	23	0
20	1656 x 55	11	7	4	4	0
	B x C					
21	19 x 1844	7	0	7	7	0
22	19 x 55	33	1	32	32	0
23	158 x 55	14	1	13	9	4
24	1844 x 55	22	0	22	14	8

24 croisements ont été étudiés et 526 asques 6:2 analysés. Le détail des croisements et les résultats sont résumés dans le tableau V. La lecture de ce tableau permet de faire les remarques suivantes.

1 - Tous les asques 6:2 recueillis à partir de croisements impliquant deux des trois sites de gauche (270, 60 et 1656) sont issus de conversion. La ségrégation 1:3 (parent minoritaire) intéresse toujours le site de gauche et la ségrégation 2:2 (parent majoritaire) le site de droite: nous reviendrons ultérieurement sur ce dernier aspect (voir page 38).

2 - La quasi totalité des asques 6:2 (74 sur 76) issus des croisements impliquant les trois sites de droite (19 ou 158, 1844 et 55) correspondent également à des conversions.

3 - Dans tous les autres cas, c'est-à-dire à partir des croisements impliquant chacun un des sites de droite et un des sites de gauche, on obtient pour chaque croisement des asques 6:2 résultant les uns de crossing-over, les autres de conversion. Les croisements n° 9 et 12 se présentent comme des exceptions à cette règle puisque les 12 asques analysés résultent de crossing-over; mais la faiblesse des effectifs met sérieusement en doute le caractère significatif de ce résultat. Nous en avons d'ailleurs eu indirectement la confirmation pour l'un de ces croisements.

Ces constatations appellent quelques remarques.

L'une concerne les groupes de mutants A, B et C dont il a été question antérieurement (LISSOUBA et al., 1962). Les mutants A situés à gauche sont tous très proches les uns des autres et très éloignés des sites les plus à droite (C); croisés entre eux ils ne fournissent que des conversions, croisés avec les mutants B ou C il apparaît un mélange de crossing-over et de conversion. Les mutants B sont proches en même temps des mutants A et de l'extrémité droite (C) du segment; croisés avec C il apparaît presque exclusivement des conversions. Les mutants C placés à l'extrémité droite sont difficilement séparables les uns des autres.

TABLEAU Vbis - Répartition des crossing-over et des conversions dans les croisements mutant x mutant intéressant des sites variés du locus 19.

n°	Croisement	Nb d'asques 6:2 analysés	Nb d'asques 6:2 issus de		Parent majoritaire	
			crossing-over	conversion	Gauche	droit
	A x A					
1	270 x 1678	5	0	5	0	5
	A x B					
2	270 x 72	3	0	3	0	3
3	270 x 622	19	2	17	5	12
4	270 x 900	5	0	5	0	5
5	270 x 1292	2	0	2	0	2
6	60 x 82	22	17	5	0	5
7	60 x 243	4	1	3	0	3
8	60 x 484	2	1	1	0	1
9	60 x 622	15	5	10	4	6
10	60 x 1844	1	0	1	0	1
11	65 x 158	23	7	16	16	0
12	65 x 243	3	0	3	3	0
13	1130 x 158	1	0	1	1	0
14	1130 x 243	4	0	4	4	0
15	1130 x 1844	6	0	6	4	2
16	1467 x 19	10	9	1	1	0
17	1467 x 158	1	0	1	1	0
18	1467 x 243	1	0	1	1	0
19	1510 x 19	2	1	1	1	0
20	1510 x 243	1	0	1	1	0
21	1510 x 1844	18	8	10	10	0
22	1656 x 19	2	0	2	1	1
23	1656 x 158	6	2	4	1	3
24	1656 x 243	10	1	9	3	6
25	1656 x 1844	23	15	8	4	4

TABLEAU Vbis (suite)

n°	Croisement	Nb d'asques 6:2 analysés	Nb d'asques 6:2 issus de crossing-over	conversion	Parent majoritaire Gauche	droit
	A x C					
26	60 218	6	3	3	3	0
27	60 x 324	24	15	9	7	2
28	65 x 55	21	7	14	14	0
29	1130 x 55	21	17	4	4	0
30	1467 x 324	3	0	3	3	0
31	1467 x 55	10	7	3	3	0
32	1510 x 324	4	0	4	4	0
33	1510 x 55	10	3	7	7	0
34	1656 x 324	7	1	6	6	0
35	1678 x 324	86	15	71	67	4
36	1678 x 55	47	11	36	36	0
	B x C					
37	865 x 622	11	0	11	10	1
38	19 x 622	5	0	5	5	0
39	243 x 218	2	0	2	2	0
40	19 x 218	6	0	6	6	0
41	1844 x 218	4	0	4	4	0
42	1768 x 324	4	0	4	4	0
43	72 x 324	2	0	2	2	0
44	1830 x 324	10	0	10	10	0
45	865 x 55	7	0	7	7	0
46	243 x 55	18	0	18	13	5
47	82 x 55	9	0	9	9	0
48	622 x 55	3	0	3	1	2
49	218 x 55	1	0	1	1	0

L'autre concerne ce même groupement, à la lumière de l'ensemble des données réunies dans le tableau V où ce vocabulaire a été utilisé. Dans le cadre de ce qui a été dit plus haut on pourrait envisager deux sous-segments seulement: le premier correspondrait au groupe A, le second à l'ensemble des groupes B et C. On pourrait résumer les informations de la manière suivante: à l'intérieur de chacun des deux sous-segments on n'observe presque uniquement que des conversions, lorsqu'un croisement intéresse deux sites localisés sur des sous-segments différents on obtient un mélange de crossing-over et de conversion.

Nous avons essayé de vérifier ce résultat très schématique en envisageant de nombreux autres mutants qui, en tenant compte surtout des fréquences de recombinaison observées (fig. II), pouvaient être répartis dans les groupes A, B et C. Les résultats obtenus sont groupés dans le tableau V bis construit exactement comme le tableau V et correspondant à 510 asques 6:2 provenant de 49 croisements différents. Il est facile de constater que les résultats sont exactement identiques. L'absence de crossing-over dans certains des croisements A x C et surtout A x B mérite les mêmes remarques que l'absence de conversion dans certains croisements A x B du tableau V. Cette absence correspond toujours à des effectifs très réduits. Dans le tableau V bis, un seul croisement A x A est mentionné, mais ce tableau a l'avantage de grouper de nombreux croisements B x C pour lesquels aucune exception à la règle mise en évidence n'est trouvée.

En résumé, tout se passe comme si le segment correspondant à la série 19 était constitué de deux unités au sein de chacune desquelles seules les conversions sont possibles. Cela est un élément important que nous approfondirons bientôt en étudiant les phénomènes de polarité. Auparavant plusieurs compléments peuvent être apportés à notre analyse.

b) Les modalités de la recombinaison dans les croisements A x B et A x C.

Il s'agit de croisements intéressant deux sites n'appartenant pas à la même unité et qui bien généralement fournissent un mélange de crossing-over et de conversion. Nous savons déjà (voir Tabl. I) que de tels croisements fournissent des fréquences d'asques 6:2 très différentes et qu'en particulier ces fréquences sont beaucoup plus élevées dans les croisements A x C que dans les croisements A x B, autrement dit que la "position" du site placé sur la seconde unité constitue l'élément important du résultat. L'observation des tableaux V et V bis permet de mettre en évidence dans ces croisements une autre variation importante: la "fréquence relative des crossing-over" (ou des conversions) est très variable selon les croisements; les résultats des croisements 15 à 19 du tableau V en particulier, en constituent un exemple très parlant.

Le déterminisme de cette hétérogénéité serait intéressant à connaître. Dépend-il, comme la fréquence globale de recombinaison, de la position du site localisé sur la deuxième unité, ce qui revient à dire que les croisements A x B et A x C donneraient des résultats différents? Si on examine par exemple les croisements A x B, 13 du tableau V et 6 du tableau V bis les résultats sont très différents; on observe un phénomène du même genre parmi des croisements A x C ainsi que le montre par exemple les croisements 17 et 18 du tableau V. Si l'on groupe l'ensemble des croisements A x B d'une part et A x C d'autre part, bien que le caractère de ce groupement soit artificiel, le même phénomène apparaît sous une autre forme. Dans les croisements A x B on aboutit à 127 crossing-over pour 323 tétrades 6:2 (39%) on en obtient 38% dans les croisements A x C (200 sur 529). Il apparaît donc clairement que l'hétérogénéité observée ne dépend pas de la position du site localisé sur le segment B - C. On peut penser alors que les variations observées dépendent du site A sans pouvoir prévoir s'il s'agit de sa nature ou de sa position. Nous avons groupé dans le

TABLEAU VI - Fréquences globales des asques 6:2 et fréquences des asques 6:2 résultant d'un crossing-over dans divers croisements A x B et A x C. Chaque fréquence est calculée pour 10^3 tétrades.

Croisements	I Nb d'asques 6:2 analysés	II Nb d'asques issus de crossing-over	III Fréquence relative des crossing-over	IV Fréquences pour 10^3 tétrades des asques 6:2	V des crossing-over
270 x 19	24	6	0,25	2,88	0,72
270 x 622	19	2	0,10	3,33	0,35
270 x 324	38	4	0,10	10,53	1,11
270 x 55	47	3	0,06	11,74	0,75
60 x 19	20	13	0,65	1,20	0,78
60 x 82	22	17	0,77	2,27	1,75
60 x 622	15	5	0,33	2,85	0,95
60 x 324	24	15	0,63	8,35	5,22
60 x 55	134	88	0,66	18,32	12,03
2073 x 158	12	3	0,25	1,33	0,33
2073 x 1844	18	8	0,44	4,18	1,86
2073 x 55	25	7	0,28	9,73	2,72
1510 x 1844	18	8	0,44	2,21	0,98
1510 x 55	10	3	0,30	2,30	0,69
1467 x 19	10	9	0,90	0,02	0,02
1467 x 55	10	7	0,70	4,43	3,10
1028 x 243	14	3	0,21	1,38	0,30
1028 x 1844	18	6	0,33	3,74	1,25
1028 x 55	35	12	0,34	7,49	2,57
1130 x 55	21	17	0,80	4,01	3,25
65 x 158	23	7	0,30	1,17	0,36
65 x 55	21	7	0,33	8,47	2,82
1678 x 55	47	11	0,23	7,51	1,76
1678 x 324	86	15	0,17	11,37	1,98
1656 x 243	10	1	0,10	1,08	0,11
1656 x 1844	23	15	0,65	2,05	1,34
1656 x 55	11	7	0,63	4,09	2,60

tableau IV tous les croisements où au moins dix asques 6:2 sont connus, en rapprochant ceux qui possèdent le même mutant A.

On retrouve évidemment sur ce tableau l'hétérogénéité signalée plus haut mais on constate que les fréquences relatives de crossing-over pour chaque mutant A envisagé ne sont pas très différentes. Les tests statistiques x réalisés montrent qu'il s'agit réellement d'une homogénéité à une seule exception près. En effet dans les croisements intéressant le mutant A 1656, l'un d'eux 1656 x 243 diffère significativement des deux autres.

Si on admet cette homogénéité pour les autres croisements il devient possible de caractériser chacun des mutants A par une "fréquence relative moyenne" des crossing-over observés. Pour les mutants 270, 60,2073, 1510, 1028, 1467, 1130, 1678 et 65 on aboutit alors aux valeurs 0,12; 0,64; 0,33, 0,39; 0,31, 0,80, 0,80; 0,20 et 0,32. On montre facilement que les fréquences caractéristiques de 60, 1467 et 1130 ne sont pas significativement différentes mais diffèrent de toutes les autres, aucune différence n'apparaît entre les fréquences correspondant à 2073, 1028, 1678 et 65; celle de 1510 diffère de 1678 mais est équivalente à celles de 2073, 1028 et 65. Les valeurs relatives à 270 et 1678 ne sont pas différentes, celle de 270 diffère de toutes les autres.

On peut se demander alors quelle est la caractéristique du mutant A responsable des différences observées; nous ne nous bornerons qu'à quelques remarques.

Il ne semble pas que la position du site soit un élément déterminant. L'ordre dans lequel les sites ont été cités correspond à celui de la carte établie pour le groupe A (fig. II) et il faudrait le bouleverser entièrement pour obtenir une gradation des fréquences; par ailleurs 60 et 2073 se comportant très différemment, sont des homoallèles; il en est de même pour 1130 et 1678. On peut penser alors à la nature du mutant. On constate par exemple que 1510 et 65

---

x Analyse de variance à l'aide de la transformation angulaire et test χ^2

auxquels on doit attribuer une certaine longueur présentent des fréquences faibles (0,39 et 0,32), mais c'est aussi le cas pour 1028 (0,31), alors qu'il est quasiment impossible de lui attribuer une dimension importante; rien n'indique, de plus, que des deux mutants 60 et 2073 (0,64 et 0,33) l'un ait une taille nettement supérieure à l'autre. On constate enfin que la déficience 65 recouvre des sites conduisant à des fréquences très différentes.

Quoiqu'il en soit on peut résumer les données acquises ici de la manière suivante. La fréquence absolue des recombinants sauvages dans les croisements A x B et A x C dépend essentiellement de la place occupée par l'un des sites sur le segment B - C. Ces recombinants résultent soit de crossing-over soit de conversion. La fréquence relative des crossing-over (ou des conversions) dépend essentiellement du site A utilisé. Sous une autre forme cela revient à dire que si l'on envisage plusieurs croisements A x B et A x C impliquant le même site A et correspondant à des fréquences croissantes de recombinaison, on constate qu'il y a une augmentation parallèle du crossing-over et de la conversion (Tabl. VI).

c) Conclusion.

En résumé, le segment correspondant à la série 19 peut être l'objet soit de conversion soit de crossing-over. Aucun crossing-over n'a été observé dans les croisements intéressant deux sites du sous-segment A. Il en est pratiquement de même (deux exceptions sur 158 tétrades) pour le segment B - C. Au contraire les croisements impliquant deux sites n'appartenant pas au même sous-segment fournissent tous (au moins dans les cas où de nombreux asques sont connus) un mélange de crossing-over et de conversion. Dans ces cas la fréquence relative des crossing-over (ou des conversions) dépend essentiellement du site mutant du groupe A utilisé; pour un même site A dans tous les cas sauf un (et il s'agit du site 1656 le plus proche du groupe B; fig.I , page 14) cette fréquence est constante quel que soit le site du segment B - C impliqué.

Parmi ces résultats l'un d'eux mérite un examen plus approfondi: c'est l'absence de crossing-over sur chacun des deux sous-segments A et B - C.

E - LES PHENOMENES DE POLARITE.

L'idée de polarité au sein d'un locus a été introduite par LISSOUBA et RIZET (1960) pour rendre compte des résultats intéressant le locus 46 chez l'Ascobolus immersus. Ils ont défini une unité, le "polaron", présentant les caractéristiques suivantes: additivité des fréquences de recombinaison; absence de crossing-over et polarité des conversions. Cette dernière peut être exposée de la manière suivante: si on oriente la carte représentant le segment et qu'on analyse des asques 6:2 issus de croisements mutant x mutant, la conversion se situe toujours au niveau du site de droite (ou de gauche selon les conventions). Avec le langage utilisé comme nous l'avons indiqué, on appelle "parent minoritaire" celui qui correspond au site faisant l'objet d'une ségrégation 1:3 et "parent majoritaire" celui qui correspond au site mutant montrant une ségrégation 2:2.

Dans le cas de la série 19, nous avons vu que pratiquement aucun crossing-over ne se produit sur chacun des segments A et B - C, alors qu'on en observe généralement dans les croisements impliquant les deux sous-segments. On peut alors se demander si A et B - C représentent deux polarons qui, dans ce cas, seraient contigus.

Etant donné la rareté des recombinaisons, il n'est pas possible de dire s'il y a additivité de leurs fréquences sur le sous-segment A (Tabl. I', page 13). Sur le sous-segment B - C il est clair qu'il n'y a pas additivité des fréquences. Si l'on se rapporte au tableau III le phénomène est extrêmement net pour les sites 19, 1844 et 55 relativement éloignés les uns des autres. Des deux crossing-over décrits dans les croisements B x C l'un au moins est absolument certain, puisque le double mutant obtenu a été décomposé en mutants

simples à la suite du croisement double-mutant x sauvage (voir Tabl. VIII, page 50). Remarquons toutefois que de telles anomalies ont été également trouvées dans la série 46 (ROSSIGNOL, 1964).

A l'intérieur de chacun des sous-segments A et B - C la polarité peut être déduite de la lecture des tableaux V et V bis (voir pages 29-31) et des figures I et II (voir pages 14-17). Pour le segment A, 26 tétrades sont connues dans lesquelles le parent majoritaire est toujours à droite, autrement dit, dans lesquelles la conversion intéresse toujours le site de gauche. Il y a donc une polarité dont nous admettrons qu'elle va de droite à gauche (du parent majoritaire vers le parent minoritaire). Pour le segment B x C les phénomènes sont plus complexes.

170 asques 6:2 issus de tels croisements ont été étudiés. Les résultats de l'analyse de 158 d'entre eux issus de 17 croisements sont mentionnés dans les tableaux V et V bis. Deux seulement résultent de crossing-over. Parmi les 156 qui correspondent à une conversion, 136 la situent au niveau du site mutant de droite (site C). Cette caractéristique (parent majoritaire gauche) se retrouve même pour les croisements où des exceptions ont été trouvées. Beaucoup de ces exceptions (19/20), c'est-à-dire des conversions au niveau du site de gauche, proviennent de croisements impliquant le mutant 55. Il ne faut cependant pas oublier que ce mutant a été utilisé fréquemment et que relativement de très nombreux asques 6:2 analysés proviennent de croisements qui le concernent. Cette particularité pourrait expliquer également que les deux crossing-over trouvés intéressent 55. Des 12 tétrades non mentionnées dans les tableaux et issues du croisement 622 x 1844 (B x B), quatre correspondent à une conversion au niveau du site 1844, huit au niveau de 622. Quelle que soit la position relative des sites 622 et 1844, actuellement inconnue, certaines de ces tétrades correspondent donc également à des inversions de majoritaires.

La présence de toutes ces exceptions, dont on retrouve d'ailleurs l'équivalent dans la série 46 (ROSSIGNOL, 1964) ne s'oppose pas à l'existence d'une polarité très nette qui, avec les conventions admises précédemment va de la partie B vers la partie C de ce segment. Cette polarité est inverse de celle mise en évidence pour le sous-segment A. Il apparaît donc qu'une "inversion de la polarité" se situe entre les segments A et B - C.

Voyons comment cette inversion de polarité se traduit au niveau des croisements A x C et A x B dont nous savons déjà qu'ils fournissent un mélange de crossing-over et de conversion. Existe-t-il d'ailleurs dans ces croisements une polarité pour les conversions?

Dans les croisements A x C analysés (Tabl. V et V bis, pages 29 - 31) 329 asques répondent à ce mécanisme dont 301 correspondent à des conversions au niveau du site de droite. On retrouve donc là une polarité identique à celle du croisement B x C. Lès 28 exceptions concernent cinq croisements différents dont un grand nombre d'asques a été analysé. Remarquons cependant que 17 des 28 tétrades montrant une inversion de majoritaire sont issues de croisements impliquant le mutant 270. Tous ces résultats pourraient être liés à la fréquence des conversions au niveau des sites impliqués dans les croisements.

Les résultats concernant les conversions issues des croisements A x B sont plus complexes. Pour un même croisement à quelques inversions près, c'est généralement le même parent qui est majoritaire. Selon les cas, il s'agit du mutant A comme dans les croisements n° 9 à 14 du tableau V et 11 à 25 du tableau V bis, ou du mutant B comme dans les croisements n° 4 à 8 du tableau V et 2 à 10 du tableau V bis. Les mutants A 270 et 60 localisés à gauche du segment A sont l'un et l'autre minoritaires, les autres sites du segment A (2073, 1028, 65, 1130, 1467 et 1510) correspondent à des parents généralement majoritaires. Notons cependant que les mutants 60 et 2073 qui ont des comportements différents sont homoallèles. Il n'en demeure pas moins

que la localisation du site A paraît jouer un rôle, et qu'il existe sur le segment A une zone correspondant à la nouvelle inversion de polarité relevée ici, qui se situerait à droite de 2073. Comme dans le cas des croisements A x C les "inversions de majoritaires" ne paraissent pas réparties au hasard, on notera par exemple la fréquence élevée de ces exceptions dans les croisements intéressant 622 et 1656.

Un dernier aspect apparaît si on envisage globalement les croisements A x B et A x C: aucune conversion n'a été observée au niveau de certains sites. Cela peut résulter du petit nombre de tétrades connues comme c'est le cas pour 1467 ou 1510; mais dans un cas au moins, celui du site 1028, le phénomène est beaucoup plus évident, pour 73 tétrades connues dont 46 conversions, aucune ségrégation 1:3 n'est décelée au niveau de ce site. Rien ne s'oppose alors à ce qu'on localise au niveau ou aux environs de ce majoritaire absolu l'endroit où se situe l'inversion de polarité mentionnée plus haut.

En résumé, lorsqu'on analyse les conversions, des phénomènes indubitables de polarité se manifestent sur le segment intéressant le locus 19. Cette polarité est plus complexe que celle mise en évidence pour le locus 46. Chacun des sous-segments A et B - C, définis antérieurement par l'absence de crossing-over montre une polarité propre, de droite à gauche pour le sous-segment A, de gauche à droite pour le sous-segment B - C. Ces deux sous-segments manifestent donc des polarités inverses.

On retrouve également des phénomènes de polarité à partir de croisements intéressant l'un et l'autre des deux sous-segments (A x B et A x C). Dans ce cas le déterminisme des phénomènes paraît complexe. Dans les croisements A x B la position du site A paraît être importante; dans les croisements A x C ils sont peut-être liés à des différences de fréquence de conversion des deux sites en jeu. A ce sujet l'un des sites étudié 1028 mérite une mention particulière. Aucune conversion n'a été décelée à son niveau.

F - DISCUSSION ET CONCLUSION.

Les faits rapportés au cours de ce chapitre peuvent être groupés autour de quelques notions qu'il n'est pas inutile d'expliciter à nouveau.

Nous avons tout d'abord réalisé une carte incluant de nombreux sites appartenant à ce locus. Ce travail a été réalisé en deux temps et les résultats sont de valeur inégale. Dans un premier temps en utilisant des techniques variées (fréquence de recombinaison, déficiences et croisements à trois facteurs), nous avons établi la séquence de sept sites considérés comme les sites principaux. Dans un deuxième temps en utilisant essentiellement des fréquences de recombinaison nous avons tenté de localiser 16 nouveaux sites par rapport aux sites principaux. Nous avons retrouvé les grandes différences de fréquences de recombinaison déjà décrites antérieurement. De nombreux cas d'homoallèlisme ont été mis en évidence. Nous avons pu scinder l'ensemble de ces sites en trois groupes A, B et C déjà mentionnés et qui se succèdent sur le segment.

Ce groupement basé essentiellement sur les fréquences de recombinaison a été défini par d'autres caractéristiques et en particulier en tenant compte des modalités de la recombinaison. Ceci nous a conduit à considérer que le locus était constitué par deux sous-segments A et B - C, sur chacun desquels aucun crossing-over pratiquement ne se produit; alors que la présence de crossing-over est la règle dans les croisements intéressant l'un et l'autre des deux sous-segments. Ceci nous a conduit à comparer chacune de ces sous-unités au polaron décrit antérieurement donc à rechercher au niveau de ce locus s'il existait une polarité. Les faits confirment l'existence d'une telle polarité et même de deux polarités opposées, l'une correspondant au sous-segment A, l'autre au sous-segment B - C. Nous avons retrouvé

cette polarité des conversions dans les croisements A x B et A x C avec cette nuance que dans ce cas, l'inversion de la polarité ne paraît pas exactement correspondre à la limite entre A et B - C.

La difficulté de comparer au moins immédiatement nos deux sous-unités à des polarons repose encore sur d'autres informations. Certaines correspondent à des exceptions déjà rencontrées sur le polaron 46 (ROSSIGNOL, 1964), c'est le cas d'inversion de majoritaires, c'est le cas également de la présence sur le segment B - C de rares crossing-over. D'autres sont d'un type différent: c'est essentiellement l'absence d'additivité générale sur l'ensemble du segment dès qu'on envisage des sites un peu éloignés les uns des autres. Abstraction faite de ces difficultés cette comparaison ne sera d'ailleurs valable que lorsque nous aurons vérifié s'il existe une autre polarité se traduisant par une gradation dans la fréquence des conversions.

Les croisements bifactoriels impliquant deux sites localisés l'un sur le sous-segment A, l'autre sur le sous-segment B - C, fournissent des recombinants, issus les uns de crossing-over les autres de conversion, tous situés dans des asques 6:2. La fréquence de telles tétrades dépend essentiellement de la position des sites envisagés. Les plus grandes fréquences dépassent 1% (croisements A x C) alors que les croisements A x B fournissent des fréquences beaucoup plus faibles. A l'intérieur de ces fréquences globales la fréquence relative des crossing-over (ou des conversions) est très variable selon les croisements, mais cette fréquence relative est pratiquement constante pour tous les croisements intéressant un même mutant A. Autrement dit, dans chaque groupe de croisements intéressant ce mutant l'augmentation de fréquence de crossing-over est parallèle à celle des conversions. Nous serons amenés ultérieurement à essayer de préciser le sens de cette relation.

L'utilisation de spores doubles (dicaryotiques ou diploïdes) nous a permis de rechercher s'il y avait complémentation entre les mutants

utilisés. Alors que cette "complémentation" paraît la règle lorsqu'on envisage des mutants appartenant à deux loci différents, aucune complémentation n'a été observée ici malgré l'ampleur de nos expériences. L'interprétation la plus simple revient à admettre que le locus 19 est constitué par un cistron unique. Remarquons toutefois qu'un résultat analogue a été obtenu pour le locus 75 du même organisme (RIZET et ROSSIGNOL, communication personnelle) qui paraît correspondre à un segment chromosomique important. Cependant si notre interprétation est exacte cela revient à admettre qu'un même cistron peut être l'objet des deux modalités de la recombinaison. Précisons même que dans ce cas de très nombreux crossing-over et de très nombreuses conversions ont été observées. Nous aurions donc là une confirmation très étendue du même phénomène décrit chez divers organismes: Aspergillus nidulans (PRITCHARD, 1960; PUTRAMENT, 1964), Podospora anserina (M. PICARD, 1966) et Saccharomyces cerevisiae (HURST and FOGEL, 1964; et communication personnelle).

C H A P I T R E II

L'ANALYSE DES PHENOMENES DE RECOMBINAISON.

A - INTRODUCTION.

Il a déjà été question de recombinaison au chapitre I. Les deux modalités classiques (crossing-over et conversion) ont été rencontrées. On a étudié leur répartition. Les causes de leurs fréquences relatives dans certains croisements ont été recherchées, ce qui a permis de trouver une relation entre ces fréquences.

Quelques aspects importants n'ont été que signalés: c'est le cas de la non additivité des fréquences. D'autres dont on connait l'importance théorique ont été à peine effleurés ou pas du tout envisagés. Nous n'avons que signalé l'intérêt qu'il y aurait à connaître les fréquences des conversions au niveau des divers sites. Nous n'avons pas encore soulevé le problème des mécanismes de la recombinaison et éventuellement des rapports entre ces mécanismes. C'est à ces divers aspects que sera consacré le chapitre II au cours duquel divers types de croisements (mutant ou double-mutant x sauvage et double-mutant x mutant) seront analysés.

B - LES PHENOMENES DE CONVERSION.

Dans le but de vérifier s'il y a des phénomènes de polarité qui se traduisent par un ou plusieurs gradients nous avons évalué les fréquences des conversions à partir des croisements mutant x sauvage

TABLEAU VII - Nombre d'asques 4:4, 2:6 et 6:2 observés dans la descendance de divers croisements mutant x sauvage. Tous les asques 2:6 et 6:2 ne correspondent pas à de véritables conversions. L'analyse d'un certain nombre d'entre-eux permet de préciser la fréquence de celles-ci.

Mutants	Nombre d'asques observés			Nombre d'asques 2/6 analysés			Nombre d'asques 6/2 analysés		
	Total	2/6	6/2	Total	Ségrégation 1/3	Ségrégation 2/2	Total	Ségrégation 1/3	Ségrégation 2/2
270	27.387	161	169	78	67	11	80	31	49
60	15.801	25	34	16	9	7	26	14	12
2073	16.457	18	114	8	3	5	81	12	69
1028	18.320	78	37	64	3	61	30	8	22
1656	58.439	91	266	70	57	13	223	179	44
158	28.892	57	71	40	26	14	44	24	20
19	31.314	58	94	26	6	20	37	7	30
1844	18.812	113	113	54	31	23	74	61	13
1802	5.270	32	52	23	16	7	39	15	24
324	9.974	70	22	26	16	10	9	8	1
55	29.992	199	212	98	73	25	129	37	92
49	46.740	53	102	42	1	41	37	6	31
119	60.262	230	754	27	12	15	80	62	18
176	68.550	176	913	48	19	29	114	76	38
1075	4.587	12	44	7	1	6	30	5	25
1637	6.113	11	40	5	2	3	28	2	26

au niveau des sept sites principaux jalonnant le locus. L'étude des croisements double-mutant x sauvage nous a permis de rechercher si les conversions présentent une dimension. Il était intéressant de connaître l'existence et les fréquences des conversions au niveau des déficiences les plus évidentes. Il était également intéressant de rechercher le déterminisme des variations de fréquence des conversions et d'une manière plus générale des recombinaisons.

a) Fréquence des conversions à divers niveaux du locus 19.

Théoriquement cette étude est très simple. Cela revient, à partir de croisements mutant x sauvage, à calculer les fréquences des asques 2:6 et 6:2 (conversions 1:3 et 3:1). Pratiquement cela correspond à un travail important. Les asques 2:6 et 6:2 se repèrent beaucoup plus difficilement au milieu des asques 4:4 que les asques 6:2 parmi les asques 8:0 dans un croisement mutant x mutant. Il s'est révélé par ailleurs qu'une fraction des asques 2:6 et 6:2 ne correspondent pas à des conversions mais à une répartition aberrante de la pigmentation. Enfin une fraction notable mais variable des asques 6:2 correspond à de nouvelles mutations (LISSOUBA, 1961). Dans chaque croisement nous avons dû non seulement dénombrer mais également analyser une fraction importante des asques 2:6 ou 6:2 observés.

Le tableau VII rend compte de l'ensemble des observations faites non seulement sur les 11 mutants correspondant aux sept sites principaux envisagés ici, mais également sur les cinq déficiences qui seront considérées plus loin. Le tableau VII bis n'est en fait qu'un extrait du tableau VII, où seules les fréquences des conversions 1:3 et 3:1 pour les sites principaux sont mentionnées. Pour la commodité de lecture les sites sont rangés dans ce tableau selon leur ordre sur la carte.

TABLEAU VIIbis - Fréquences des conversions 1:3 et 3:1 au niveau de sept sites principaux du locus 19. Ces fréquences pour 10^3 tétrades sont accompagnées de leur intervalle de confiance.

Mutant	Fréquence de conversion 1/3		Fréquence de conversion 3/1	
270	5,05	de 4,11 à 5,90	2,39	de 2,14 à 3,20
60	0,89	de 0,48 à 1,51	1,16	de 0,69 à 1,85
2073	0,41	de 0,14 à 0,92	1,03	de 0,58 à 1,76
1028	0,20	de 0,066 à 0,59	0,54	de 0,27 à 1,04
1656	1,27	de 0,93 à 1,62	3,63	de 3,01 à 4,00
158	1,28	de 0,89 à 1,78	1,34	de 0,92 à 1,88
19	0,42	de 0,13 à 0,85	0,57	de 0,28 à 1,09
1844	3,45	de 2,78 à 5,37	4,95	de 3,91 à 6,01
324	4,39	de 2,75 à 5,94	1,96	de 1,08 à 2,77
1802	4,22	de 2,62 à 6,30	3,79	de 2,27 à 5,98
55	4,94	de 4,02 à 5,80	2,02	de 1,35 à 2,60

La lecture de ce tableau permet les remarques suivantes:

1 - Des conversions 1:3 et 3:1 apparaissent au niveau de tous les sites utilisés. Les fréquences des conversions réciproques 1:3 et 3:1 sont sensiblement égales pour les sites 19, 60, 158, 1028, 1802 et 2073; elles ne sont pas significativement différentes pour 324 et 1844; mais les sites 55, 270 et 1656 font exception à cette règle. Les conversions les plus fréquentes étant soit les conversions 3:1 (1656) soit les conversions 1:3 (55 et 270). En ce qui concerne les fréquences, les homoallèles 60 et 2073 ou 19 et 158 ont le même comportement; celui des homoallèles 55, 324 et 1802 est plus complexe.

2 - Les fréquences des conversions sont très différentes selon les sites. Les différences observées sont généralement plus faibles pour les homoallèles que pour les hétéroallèles. L'existence de dissymétrie rend délicate la comparaison des fréquences globales des conversions observées, mais elle ne s'oppose pas aux comparaisons entre les fréquences des conversions 1:3 ou 3:1. Pour les conversions 1:3, le minimum se situe au niveau de 1028 et les fréquences sont d'autant plus élevées qu'on s'éloigne de ce site. Le résultat n'est pas très différent pour les conversions 3:1. On remarque cependant que les sites 1656 et 1844 situés tous les deux à droite de 1028 ont un comportement aberrant: la fréquence des conversions observées à leur niveau est supérieure à celle du site localisé à leur droite. Malgré ces quelques exceptions si l'on envisage l'ensemble de ces faits on peut dire qu'il existe une relation entre la fréquence des conversions observées au niveau d'un site et la position de ce site sur la carte. On ne dépasse guère les faits en disant que la variation observée se traduit par une courbe en U dont le minimum se situe dans la région marquée par 1028; les sites extrêmes correspondent toujours à des valeurs élevées.

Quelques informations intéressantes ne sont pas contenues dans les tableaux VII et VII bis. Il s'agit de l'existence de ségrégations 3:5 et 5:3 dans le croisement 60 x sauvage dont la fréquence n'est pas négligeable: respectivement 0,27 o/oo et 1,29 o/oo alors qu'on a observé dans ce cas 0,68 o/oo des ségrégations 3:1. Nous avons d'ailleurs retrouvé le même phénomène dans les croisements 60 x mutant où il se traduit par des ségrégations 7:1.

Si l'on envisage uniquement les variations de fréquence de conversion en fonction de la position des sites on peut traduire l'essentiel des faits en disant qu'on observe un double gradient de fréquences dont les sens sont opposés et dont la jonction se situe au niveau du site 1028. On est tenté évidemment de rapprocher de cette situation la polarité inversée des conversions dans les sous-segments A et B - C. Une différence subsiste cependant en ce qui concerne

TABLEAU VIII - Résultats de l'étude de divers croisements double mutant x sauvage. Pour chaque croisement on a mentionné les chiffres correspondant aux asques 4:4, 2:6 et 6:2. Parmi une fraction des asques 2:6 et 6:2 décelés on a recherché ceux qui correspondent soit à une conversion au niveau de l'un ou l'autre des deux sites impliqués soit à une conversion simultanée soit à un crossing-over.

n°		Nombres d'asques observés		Résultats de l'analyse génétique des asques 2:6		Résultats de l'analyse génétique des asques 6:2			
				Nb analysés	Nb de ségrégations 1:3 observées	Nb. analysés	Nb. de ségrégations 3:1 observées simultanées en	simples en	Nb. de crossing-over
1	270, 55 x sauv.	4:4 2:6 6:2	19.221 9 142	19	8	93	270 et 55 3	270 55 4 19	10
2	60, 55 x sauv.	4:4 2:6 6:2	6.860 34 79	10	4	78	60 et 55 1	60 55 2 5	23
3	1028, 55 x sauv.	4:4 2:6 6:2	21.101 10 238	6	3	103	1028 et 55 3	1028 55 0 8	11
4	2073, 55 x sauv.	4:4 2:6 6:2	7.539 16 84	4	0	31	2073 et 55 2	2073 55 1 1	3
5	1028, 1844 x sauv.	4:4 2:6 6:2	11.412 21 106	8	2	90	1028 et 1844 4	1028 1844 3 43	17
6	2073, 19 x sauv.	4:4 2:6 6:2	11.437 42 178	12	1	101	2073 et 19 4	2073 19 3 2	5
7	158, 55 x sauv.	4:4 2:6 6:2	10.895 4 38	28	6	89	158 et 55 19	158 55 6 14	1

xxx- 3 des 93 asques analysés correspondent à une ségrégation 1:3 en ce qui concerne les sites SE. La structure génétique de seulement 40 asques parmi les 63 restants a été déterminée.

l'inversion de polarité qui dans ce dernier cas ne se situe pas au niveau de 1028. Remarquons toutefois que cette ambiguité disparaît si au lieu d'envisager des conversions issues des croisements A x A et B x C on s'intéresse à celles fournies par les croisements A x B (voir pages 40 - 41). Nous aurons évidemment à discuter de cette situation lorsque nous essayerons d'intégrer les données acquises dans la notion de polaron.

Quoiqu'il en soit, les singularités de ce locus et en particulier les propriétés du site 1028 devraient faciliter l'étude d'une autre caractéristique des conversions: leur dimension (RIZET et ROSSIGNOL, 1962).

b) la dimension des conversions.

D'une manière générale ce phénomène peut être mis en évidence en étudiant les conversions simultanées (RIZET et ROSSIGNOL, 1962; MOUSSEAU, 1966). On envisage deux sites dont on connaît la localisation. Lorsqu'on réalise des croisements double-mutant x sauvage on observe des asques 6:2 et 2:6. Parmi les premiers ceux qui correspondent à des conversions représentent en fait soit une conversion au niveau de l'un des sites, soit une conversion simultanée des deux sites. Lorsque de nombreux asques de ce type sont connus on peut donc estimer la fréquence des trois modalités possibles et ainsi comparer la fréquence des conversions simultanées au produit des conversions simples. Dans le cas des asques 2:6 seules les conversions simultanées sont décelées: on doit donc comparer leur fréquence au même produit mais dont les éléments sont tirés des croisements mutant x sauvage (Tabl. VII). Si les double-conversions correspondent à un seul événement ayant une certaine dimension on doit trouver un excès de ces phénomènes par rapport au produit des conversions simples.

A ce sujet la situation offerte par la série 19 est intéressante. L'un des sites 1028 y présente une fréquence extrêmement faible de conversion. Si on envisage deux sites placés du même côté de 1028 la fréquence des conversions simultanées observées éprouvera les prévisions que nous venons de faire; si on envisage deux sites placés

TABLEAU VIII bis - Résultats de l'étude de divers croisements double mutant x sauvage. Fréquences des conversions simultanées 1:3 ou 3:1 et des conversions simples (voir explications dans le texte page 36).

n°	Croisements	Fréquences des conversions 1:3 pour 10^3 Tétrades. I	II	Fréquences des conversions 3:1 pour 10^3 Tétrades. III	IV	V	
1	270 . 55 x sauvage	0,20 de 0,099 à 0,39	0,025	0,24 de 0,08 à 0,69	0,0009	270 0,55	55 1,72
2	60 . 55 x sauvage	0,57 de 0,40 à 1,62	0,0044	0,64 de 0,21 à 1,91	0,0018	60 1,06	55 1,70
3	1028 . 55 x sauvage	0,24 de 0,08 à 0,54	0,00099	0,33 de 0,13 à 0,92	0,0004	1028 0,32	55 1,20
4	2073 . 55 x sauvage	-	-	0,83 de 0,04 à 2,9	0,0015	2073 1,25	55 1,25
5	1028. 1844 x sauvage	0,45 de 0,13 à 1,26	0,00069	0,41 de 0,26 à 1,05	0,0034	1028 0,71	1844 4,80
6	2073 . 19 x sauvage	0,31 de 0,11 à 1,37	0,00017	0,59 de 0,26 à 1,71	0,0009	2073 1,03	19 0,88
7	158 . 55 x sauvage	0,11 de 0,036 à 1,51	0,006	1,56 de 0,98 à 2,56	0,0055	158 2,05	55 2,70

de part et d'autre de 1028, la fréquence des conversion simultanées pourra être extrêmement faible voire même pratiquement nulle.

Sept systèmes impliquant un double-mutant ont été étudiés. Quatre correspondent à des double-mutants dont les sites sont placés de part et d'autre de 1028 (270.55, 60.55, 2073.55 et 2073.19); deux des double-mutants impliquant le site 1028 (1028.55 et 1028.1844); les deux sites 158 et 55 marquant le dernier sont tous deux à droite de 1028.

Les résultats obtenus sont condensés dans les tableaux VIII et VIII bis. Toutes les observations faites dans les croisements double-mutant x sauvage sont mentionnées dans le tableau VIII. C'est ainsi que dans la colonne intéressant le nombre d'asques analysés (2:6 et 6:2) sont inclus tous les asques de ce type, qu'ils correspondent ou non à une recombinaison qu'ils soient des ségrégations aberrantes ou non. Le tableau VIII bis reprend les données du tableau VIII. On a transformé celles-ci en fréquences de conversion (simples ou simultanées) affectées de leurs limites de confiance. On a inclu également dans le tableau VIII bis pour chaque double-mutant le chiffre correspondant au produit des conversions simples; ce produit pouvant être tiré directement du tableau VIII (conversion 3:1) ou obtenu dans les croisements mutant x sauvage réalisés par ailleurs (conversion 1:3).

Le tableau VIII bis n'est donc pas symétrique pour les deux types de conversion. Les colonnes I et II relatives aux conversions 1:3 rapportent respectivement la fréquence des conversions simultanées et le produit des conversions simples. Trois colonnes sont nécessaires pour les conversions 3:1. Les fréquences des conversions simultanées font l'objet de la colonne III. Les fréquences de conversions simples sont mentionnées dans la colonne V; leur produit est indiqué dans la colonne IV.

Plusieurs notions importantes apparaissent à la lecture de ce tableau.

1 - La fréquence des conversions simultanées 1:3 et 3:1 est toujours statistiquement supérieure au produit des fréquences des conversions simples. Elle est même d'un tout autre ordre de grandeur: au moins 10 fois (conversions 1:3 dans les croisements 270.55 x sauvage et 158.55 x sauvage), le plus souvent 100 fois et même dans un cas (1028.55 x sauvage) 1.000 fois plus grande.

2 - Ces fréquences de conversions simultanées présentent une autre caractéristique remarquable à l'exception du croisement n° 7. Quel que soit le croisement envisagé elles sont toutes du même ordre de grandeur. De plus, aucune ne diffère statistiquement des fréquences de conversion observées au niveau du minimum de fréquence (1028).

3 - En ce qui concerne le croisement 158.55 x sauvage, le seul marqué par deux sites se plaçant d'un même côté de 1028, on observe que la fréquence des conversions 3:1 (1,56 o/oo) n'est pas statistiquement différente de celle des conversions simples au niveau de 158 ou 55 (2,05 et 2,70 o/oo); la fréquence des conversions simultanées 1:3 est supérieure au produit des conversions simples.

Ces résultats appellent plusieurs remarques. Si une conversion simultanée résultait de deux événements distincts les nombres trouvés traduiraient une interférence telle que cette hypothèse paraît exclue. Une seule interprétation nous paraît possible. Les conversions simultanées correspondent à un unique événement qui présente une dimension et dans chaque cas elles intéressent la totalité du segment délimité par les deux sites. Avec cette conception l'égalité des fréquences de conversions simultanées observées dans les divers croisements n° 1 à 6 résulteraient de la dimension de l'événement. Cela revient à admettre, qu'au moins dans les cas étudiés, l'énorme majorité des conversions qui se situent au niveau de 1028 s'étendent jusqu'aux sites marqueurs utilisés. Cela n'exclut nullement l'existence de nombreuses conversions n'intéressant pas la totalité du segment comme cela apparaît au niveau des sites 55 et 1844.

La fréquence élevée des conversions simultanées 3:1 décelée dans le croisement 158.55 x sauvage ne paraît alors poser aucun problème particulier. En effet cela doit signifier simplement que la plus grande partie des conversions au niveau de 158 s'étend jusqu'au site 55.

L'existence de conversions au niveau de 1028 présente un autre intérêt; nous n'avions pas trouvé de telles conversions dans les croisements mutant x mutant. Leurs fréquences dans les croisements 1028 x sauvage sont extrèmement faibles, à tel point qu'on peut légitimement se demander étant donné les techniques utilisées (récolte de tétrades projetées sans leur enveloppe), s'il s'agissait véritablement de conversions. L'existence de conversions simultanées entre sites placés de part et d'autre de 1028 nous paraît impliquer que les conversions en 1028 existent réellement, c'est-à-dire qu'il ne s'agit pas d'un site où la fréquence des conversions serait nulle.

Si maintenant nous ne retenons que la dimension des conversions nous devons avoir un autre moyen de vérifier cette propriété. Cela revient à rechercher s'il existe des conversions au niveau de déficiences et dans l'affirmative à en obtenir les caractéristiques.

c) L'existence de conversion au niveau des déficiences.

Nous avons considéré comme déficiences les anomalies correspondant à des mutants homoallèles d'un certain nombre de sites contigus. De telles déficiences correspondent à des accidents de longueurs variées. Nous nous sommes préoccupés de celles ayant une dimension importante (voir fig. I) : 49 qui recouvre les sites A et une partie des sites B; 119 et 176 qui se superposent à tous les sites placés à droite de 1028 et dont les propriétés sont identiques, 1075 et 1637 qui l'une et l'autre recouvrent une partie des sites B et des sites C.

La première question posée est celle de l'existence même de conversions au niveau des déficiences: existe-t-il des ségrégations 3:1 et surtout des ségrégations 1:3 à leur niveau?

Nous avons donc recherché de telles ségrégations à partir des croisements entre chacun de ces cinq mutants et la souche sauvage. Nous

avons retrouvé dans chacun de ces croisements des asques 2:6 et 6:2. Leur analyse génétique a été réalisée par la méthode habituelle afin de vérifier s'il s'agissait de véritables conversions. Les résultats obtenus ont déjà été mentionnés dans le tableau VII (page 46) où l'on voit que chacun de ces croisements a fourni des conversions 1:3 et des conversions 3:1.

Il paraît donc hors de doute qu'il se produit des conversions au niveau de ce que nous appelons des déficiences: non seulement des ségrégations 3:1 mais également des ségrégations 1:3.

TABLEAU IX - Fréquences des conversions 1:3 et 3:1 observées dans les croisements " déficience " x sauvage.

Mutant	fréquence de conversion 1:3		fréquence de conversion 3:1	
49	0,05	de 0,01 à 0,28	0,18	de 0,09 à 0,39
1075	0,37	de 0,013 à 2,45	1,58	de 0,53 à 3,58
1637	0,71	de 0,092 à 1,96	0,46	de 0,064 à 1,64
119	1,67	de 1,04 à 2,43	9,5	de 7,2 à 11,6
176	1,00	de 0,67 à 1,42	8,7	de 6,8 à 10,6

On trouvera dans le tableau IX les fréquences correspondant pour chaque croisement à ces deux types de conversion affectées de leur intervalle de confiance. Nous avons comparé pour chaque déficience les fréquences obtenues avec celles des conversions au niveau des divers sites qu'elles recouvrent. En comparant les résultats des tableaux IX à ceux du tableau VII bis on verra par exemple que les fréquences obtenues au niveau de la déficience 49 ne diffèrent pas statistiquement de celles obtenues au niveau de 1028 alors qu'elles le sont de celles de tous les autres sites qu'elle recouvre (à l'exception de la fréquence des 1:3 de 2073). Or des sites recouverts, 1028 est le plus proche du minimum de fréquence puisqu'il s'y localise. La même situation se retrouve pour toutes les déficiences étudiées à l'exception des conversions 3:1 au niveau de 119 et 176.

Dans le cas des deux derniers mutants (aux propriétés identiques) il y a une dissymétrie très nette entre les fréquences des conversions 1:3 et 3:1. La même dissymétrie se retrouve pour le mutant 1656 le plus proche de 1028 parmi les sites recouverts par ces déficiences. Notons également que les fréquences de conversion 3:1 obtenues sont statistiquement supérieures à celles trouvées pour les divers sites recouverts.

Dans le cas des conversions 1:3 observées, aucune différence n'apparaît entre les trois produits sauvages issus d'une conversion, mais nous nous sommes demandés si dans le cas des conversions 3:1, les trois produits mutants avaient exactement les mêmes propriétés. Cela revenait à vérifier s'ils étaient tous trois homoallèles des mêmes sites que les déficiences originelles. Nous avons choisi la déficience 176 qui est l'une des plus longue et qui recouvre les sites principaux 1656-19/158 - 1844 - 55. Quatre vingt seize souches mutantes issues de 17 asques 6:2 ont donc été croisées non seulement avec ces sites mais également avec 1028, le site le plus proche non recouvert par la déficience (fig. I, page 14). Toutes ces souches ont montré exactement les propriétés de 176. Les tétrades issues de conversion contiénnent semble-t-il, soit trois produits sauvages soit trois produits correspondant strictement à la déficience. Ceci ne se comprend évidemment que si la conversion correspond à un événement ayant une certaine dimension.

d) Variation de la fréquence des conversions en un site .

Tout ce qui a été exposé précédemment en dehors de quelques remarques (voir pages 38-47) est compatible avec l'idée qu'au moins dans un milieu bien défini, chaque site peut se caractériser par la fréquence des conversions observées à son niveau. Or on a déjà signalé qu'au niveau d'un même site cette fréquence pouvait varier selon la température et les croisements envisagés (BOUCHARENC, MOUSSEAU et ROSSIGNOL, 1966; MOUSSEAU, 1966). L'une des anomalies signalée porte précisément sur le locus 19 et intéresse le mutant 270. L'anomalie

a été décelée en comparant les résultats des croisements 270 x sauvage et 270.55 x sauvage. Pour compléter les informations nous nous sommes donc intéressés aux conversions au niveau de 55 et 270 dans les diverses situations qu'il est possible de réaliser. Les fréquences des conversions dans les croisements mutant x sauvage sont déjà connues: respectivement 4,94 et 5,05 o/oo pour les conversions 1:3; 2,02 et 2,39 o/oo pour les conversions 3:1. Les fréquences de conversion ont été évaluées également à partir du croisement mutant x mutant qui permet de connaître la fréquence des conversions 1:3. Les chiffres obtenus respectivement 8,75 et 2,25 o/oo appellent toutefois une remarque. Ces chiffres sont sous-estimés puisqu'il faudrait ajouter à chacun d'eux le chiffre correspondant à la fréquence des conversions simultanées. Notons cependant qu'il s'agit de deux sites placés de part et d'autre de 1028, c'est-à-dire une situation pour laquelle la fréquence des conversions simultanées doit être très faible (de l'ordre de 0,2 o/oo, voir Tabl. VIII bis). On a utilisé également le croisement double-mutant x sauvage qui permet de déceler toutes les conversions 3:1 simultanées ou non: dans ce cas on a obtenu les chiffres 1,72 et 0,55 o/oo respectivement pour les mutants 55 et 270. Les deux types de croisements bifactoriels représentent ainsi pour 270 et 55 les positions cis et trans.

En ce qui concerne 270 pour les conversions 1:3 le chiffre obtenu dans le croisement mutant x sauvage (5,05 o/oo) est supérieur à celui calculé à partir du croisement mutant x mutant; en fait ces deux chiffres sont à la limite de signification (Tabl. X). Pour les conversions 3:1 le chiffre obtenu dans le croisement mutant x sauvage (2,39 o/oo) est significativement plus élevé que celui correspondant au croisement bifactoriel position cis.

Des résultats du même type se retrouvent pour le site 55. Si aucune différence n'est décelée pour les conversions 3:1; une différence nette caractérise les fréquences de conversion 1:3. La plus haute fréquence est tirée du croisement mutant x mutant, alors qu'elle

est sous-estimée: elle est significativement supérieure à celle calculée à partir du croisement 55 x sauvage.

Il paraît donc hors de doute qu'au moins dans certains cas la fréquence de conversion au niveau d'un site varie selon les croisements réalisés.

En principe cette variation pourrait répondre à des déterminismes variés ou en tout cas très différents. On peut penser à des gènes extérieurs au locus et capables de modifier les fréquences de recombinaison. On connaît déjà de telles situations (CATCHESIDE et al., 1964; JESSOP et CATCHESIDE, 1965; SMITH, 1966). On peut penser également à un déterminisme intra-locus par exemple à une influence du degré d'hétérozygotie; lorsqu'il s'agit de croisements bifactoriels on peut évoquer la distance entre les sites, leur nature ou leur interaction et également leur position (cis ou trans).

L'influence de gènes extérieurs paraît difficilement compatible avec l'ensemble de nos observations. Sans entrer dans les détails disons que des très nombreux croisements décrits, certains ont été réalisés avec des souches variées: or dans tous les croisements intéressant les deux mêmes sites en même position on a toujours trouvé des résultats homogènes. Ceci est vrai en particulier pour les croisements entre diverses souches sauvages et les mutants 55 et 270. Les fréquences de conversion 1:3 et 3:1 trouvées pour chacun d'eux ne montrent aucune différence significative. Par ailleurs dans le cas des données rapportées plus haut et relatives aux fréquences de conversion de ces mêmes sites on verra facilement que cette influence "agirait" dans des sens variés: en effet dans le croisement 270 x 55, les fréquences de conversion 1:3 sont supérieures pour 55 et inférieures pour 270 aux fréquences calculées à partir des croisements mutant x sauvage.

L'influence possible de la distance entre sites a été recherchée en comparant les résultats de divers croisements ayant un parent

TABLEAU X - Fréquences des conversions 1:3 au niveau d'un même site estimées à partir de divers croisements à deux facteurs.

Croisement	Fréquence	Intervalle de confiance
55 x sauvage	4,94	4,02 à 5,80
270 x 55	8,75	6,06 à 11,63
60 x 55	5,60	4,1 à 7,8
2073 x 55	7,00	4,89 à 16,36
65 x 55	5,57	4,30 à 8,44
1028 x 55	3,11	1,42 à 4,27
1678 x 55	1,65	1,13 à 2,51
243 x 55	0,76	0,35 à 1,05
158 x 55	1,18	0,64 à 1,91
19 x 55	1,67	1,01 à 2,31
1844 x 55	0,17	0,003 à 2,05
60 x sauvage	0,89	0,48 à 1,51
60 x 55	0,83	0,34 à 1,96
60 x 82	0,52	0,21 à 1,64
60 x 1656	0,12	0,05 à 0,25
270 x 60	0	
270 x sauvage	5,05	4,11 à 5,90
270 x 55	2,25	1,12 à 4,13
270 x 324	2,20	0,87 à 3,13
270 x 622	1,79	1,09 à 2,59
270 x 19	2,16	1,29 à 2,56
270 x 1656	0,12	0,05 à 0,22
270 x 60	0,07	0,02 à 0,11
324 x sauvage	4,39	2,75 à 5,94
270 x 324	7,28	5,28 à 9,50
1678 x 324	8,96	6,00 à 11,63
1830 x 324	0,87	0,43 à 1,56
1844 x sauvage	3,45	2,78 à 5,37
2073 x 1844	2,33	1,37 à 3,33
1028 x 1844	2,50	2,06 à 3,18
1510 x 1844	1,2	0,7 à 1,9
19 x 1844	0,044	0,003 à 0,105
1844 x 55	0,1	0,02 à 0,80

commun. Plusieurs groupes de tels croisements ont été envisagés, les parents communs étant 55, 60, 270, 324 et 1844. Toutes ces informations sont groupées dans le tableau X où la colonne II correspond aux fréquences des conversions 1:3 décelées au niveau du parent commun. Rappelons que ces chiffres sont sous-estimés puisqu'ils ne tiennent pas compte des conversions simultanées. Il faut préciser aussi qu'à l'intérieur de chaque groupe les mutants sont classés selon leur localisation de gauche à droite sur la carte.

L'examen du tableau X permet les remarques suivantes:

1 - Fréquemment les fréquences de conversion 1:3 en un site sont statistiquement différentes. Les valeurs les plus élevées se rencontrent dans les croisements correspondant aux sites les plus éloignés.

2 - Parmi les variations observées, l'une très brutale se retrouve dans les cinq groupes de croisements étudiés. Les fréquences deviennent très faibles lorsque les deux sites se placent tous deux, soit sur ce que nous avons appelé antérieurement le sous-segment A, soit sur le sous-segment B - C. On peut dire également que les fréquences très faibles correspondent au cas où les deux sites sont placés du même côté de 1028: il faut noter cependant que des fréquences très faibles sont observées aussi dans les croisements 60 x 1656 et 270 x 1656 qui ne correspondent pas à cette situation, sans oublier que 1656 est extrêmement proche de 1028.

3 - Dans tous ces cas où les fréquences sont faibles, elles sont significativement inférieures à celles trouvées à partir du croisement mutant x sauvage.

4 - Dans le cas de 270 cette dernière relation demeure vraie pour l'ensemble des croisements.

Ainsi il apparaît clairement que la fréquence des conversions 1:3 en un site dépend du croisement à partir duquel on l'a estimée. Dans un croisement bifactoriel la distance entre les sites semble jouer un rôle important; il ne s'agit sans doute pas uniquement de

distance, car il paraît difficile de rendre compte de cette manière de la netteté des hiatus observés dans les fréquences; d'autant que ces hiatus correspondent à une région (minimum de fréquence de conversion) dont nous avons déjà relevé à plusieurs reprises les propriétés particulières. Si on envisage maintenant les variations propres à chacun des sites, il apparaît une certaine hétérogénéité: on notera en particulier que pour 270 on ne retrouve la fréquence décelée dans le croisement 270 x sauvage dans aucun des croisements bifactoriels réalisés.

Dans les croisements bifactoriels l'influence possible de la position des sites a été recherchée, mais les résultats obtenus apportent peu d'informations nouvelles. Dans les croisements double-mutant x sauvage les fréquences des conversions 3:1 observées sont généralement du même ordre de grandeur que celles fournies par le croisement mutant x sauvage; toutefois pour les croisements 270 x sauvage et 270.55 x sauvage rappelons que les fréquences observées (respectivement 2,39 et 0,55 o/oo) sont significativement différentes. Lorsque l'on compare les résultats obtenus pour un même couple de mutants en position cis ou en position trans on observe des différences significatives entre les fréquences de recombinaison, (voir Tabl. I' et Tabl. VIII, pages 13 - 50) comme cela a déjà été vu ailleurs (GREEN and GREEN, 1949; PARSONS, 1957; ALTENBURG and ALTENBURG, 1959; ALTENBURG and BROWNING, 1965). Ces différences concernent non seulement la dissymétrie des fréquences de conversion 1:3 et 3:1 décelée au niveau des divers sites, mais également la fréquence des crossing-over dans l'intervalle considéré. La valeur obtenue à partir du croisement mutant x mutant peut être supérieure à celle estimée à partir du croisement double-mutant x sauvage (60 x 55; 12,03 o/oo de crossing-over et 60.55 x sauvage; 4,9 o/oo; BOUCHARENC, MOUSSEAU et ROSSIGNOL, 1966).

e) Conclusions.

Les faits rapportés précédemment peuvent être groupés autour de trois notions concernant: la fréquence des conversions en un site donné, la dimension des conversions et leur polarité.

On peut calculer la fréquence des conversions en un site donné à partir d'un croisement monofactoriel. Cette fréquence est spécifique, que les conversions réciproques (1:3 ou 3:1) aient ou non la même probabilité. Toutefois même si on exclut l'influence des facteurs extérieurs génétiques ou non, cette fréquence dépend encore du système à partir duquel elle a été estimée. Elle est différente selon que les croisements sont mono- ou bifactoriels, ou dans ce dernier cas selon que les sites mutants sont en position "cis" ou en position "trans". La distance entre les sites mutants n'est pas indifférente ainsi que leur position par rapport à 1028.

On trouve des conversions 1:3 ou 3:1 pour tous les sites étudiés y compris pour ceux que nous considérons comme des déficiences. Dans les croisements monofactoriels la fréquence de ces conversions dépend de la position des sites. Un minimum de fréquence très faible se situe au niveau du site 1028. A quelques rares anomalies près les fréquences deviennent de plus en plus grandes au fur et à mesure qu'on s'éloigne de ce site soit vers la droite soit vers la gauche.

C'est l'étude des conversions simultanées dans les croisements double-mutant x sauvage qui nous a permis d'établir que les conversions présentaient une dimension, comme le laisse supposer l'existence de ces événements au niveau des déficiences. Une preuve supplémentaire est apportée par les résultats concernant les double-mutants dont les sites se placent de part et d'autre de 1028. Dans ce cas les conversions simultanées,quel que soit le croisement étudié, ont des fréquences qui ne sont pas significativement différentes et qui ne diffèrent pas davantage des résultats trouvés au niveau de 1028.

C - LES RELATIONS ENTRE CROSSING-OVER ET CONVERSION.

Tous les résultats précédemment décrits ont pu être exposés sans soulever le problème des relations entre les deux modalités,

fréquemment rencontrées, de la recombinaison. Que le crossing-over et la conversion constituent deux mécanismes de recombinaison différents comme le pensent par exemple STADLER et TOWE (1963) ou que ces deux modalités ne soient que deux manifestations d'un même mécanisme fondamental, voire même d'un seul événement comme l'ont suggéré divers auteurs, les faits rapportés conservent leur valeur. Il est également vrai que les connaissances acquises sur le locus 19 pouvaient permettre d'en faire un matériel intéressant pour rechercher des informations sur le problème même de la recombinaison. Ceci apparaît clairement si l'on se souvient en particulier des diverses situations rencontrées quant à la répartition des crossing-over et des conversions. Cela paraît également si l'on rappelle que, dans les croisements intéressant un même site A et divers sites B ou C plus ou moins éloignés de lui, la fréquence relative de ces deux modalités demeure constante. Dans cette étude il n'est pas possible de tenir compte de marqueurs extérieurs proches actuellement inconnus, mais l'obtention de double-mutants très variés (voir Tabl. V et V bis) a permis de réaliser de nombreux croisements à trois facteurs dont on sait qu'ils peuvent apporter à ce sujet des informations intéressantes (CASE and GILES, 1964; RIZET et ROSSIGNOL, 1966). L'étude de tels croisements nous était d'ailleurs utile pour préciser la localisation d'un certain nombre de sites.

Nous décrirons les résultats obtenus avec le vocabulaire primitivement utilisé pour le locus 19, c'est-à-dire les trois groupes de sites A, B et C. Dans les croisements A.B x C et A x B.C, le simple mutant correspond dans tous les cas à un site extrême, nous les envisagerons ensemble. Dans les croisements A.C x B au contraire le simple mutant correspond au site intermédiaire: nous les envisagerons ensuite.

a) Etude des croisements A.B x C et A x B.C.

Trois mutants A différents (60, 2073 et 1467), deux double-mutants B.C (19.55 et 158.55), un mutant C (55) et trois double-mutants A.B (60.19, 1467.19 et 2073.19) ont été utilisés pour

TABLEAU XI - Fréquences des asques 6:2 recueillis dans divers croisements à trois facteurs (A. B x C et A x B. C). Ces fréquences sont comparées à celles à 2 facteurs correspondant (B x C par rapport à A. B x C et A x B par rapport à A x B. C).

Croisements	nombre d'asques 8:0	6:2	fréquence
A. B x C			
60. 19 x 55	33. 266	29	0, 87 de 0, 58 à 1, 25
1467. 19 x 55	77. 253	53	0, 69 de 0, 51 à 0, 90
2073. 19 x 55	167. 953	112	0, 67 de 0, 54 à 0, 81
19 x 55	35. 888	32	0, 89 de 0, 61 à 1, 26
A x B. C			
1467 x 19. 55	55. 754	2	0, 04 de 0, 004 à 0, 13
1467 x 158. 55	16. 447	1	0, 06 de 0, 001 à 0, 34
1467 x 19	29. 166	6	0, 21 de 0, 08 à 0, 45
1467 x 158	19. 722	13	0, 66 de 0, 34 à 1, 13
2073 x 158. 55	42. 745	3	0, 07 de 0, 01 à 0, 20
2073 x 158	4. 518	6	1, 33 de 0, 49 à 2, 89
60 x 19. 55	58. 623	7	0, 12 de 0, 04 à 0, 25
60 x 158. 55	41. 870	13	0, 31 de 0, 16 à 0, 53
60 x 19	21. 699	26	1, 20 de 0, 78 à 1, 76
60 x 158	15. 390	24	1, 56 de 1, 00 à 2, 32

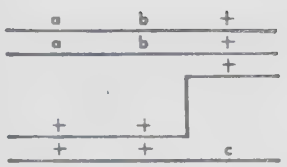
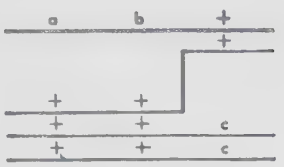
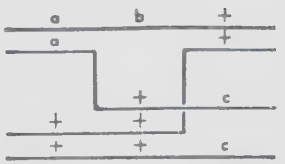
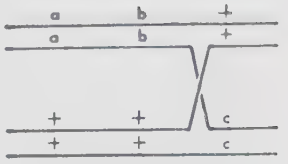
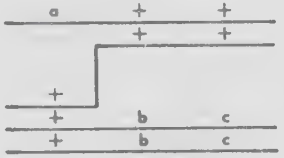
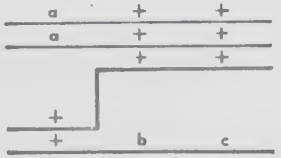
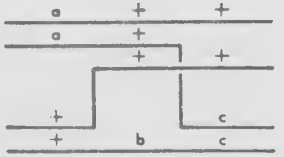
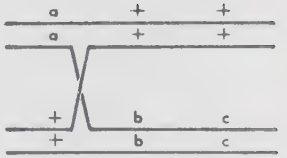
réaliser ces croisements dans la descendance desquels on a recherché les recombinants sauvages qui se présentent dans la quasi totalité des cas sous forme d'asques 6:2. Ces asques ont été dénombrés, on a calculé leurs fréquences et les limites de confiance de ces fréquences. Dans de tels croisements les événements les plus probables qui peuvent être décelés doivent se situer manifestement soit entre A et B (croisement A x B.C) soit entre B et C (croisement A.B x C). Il était donc intéressant de comparer les fréquences d'asques 6:2 obtenues avec celles correspondant aux croisements A x B et B x C impliquant des sites communs. On trouvera groupés dans le tableau XI les résultats de ces observations et de ces dénombrements.

Tous les croisements à trois facteurs étudiés produisent des asques 6:2. Dans les croisements A.B x C leurs fréquences ne diffèrent pas statistiquement de celle des croisements B x C correspondants. Il n'en est pas de même dans les croisements A x B.C : ainsi, dans tous les cas où la comparaison a été faite c'est à partir des croisements à trois facteurs que les fréquences sont les plus faibles et ceci presque toujours significativement.

A partir de trois croisements A.B x C différents (60.19 x 55, 1467.19 x 55 et 2073.19 x 55) et de trois croisements A x B.C différents (60 x 158.55, 1467 x 158.55 et 60 x 19.55) un certain nombre d'asques 6:2 ont été analysés, en recroisant chacun des produits de la méiose avec les trois souches A, B et C simples mutants correspondant au croisement. On a pu ainsi déterminer le type de ségrégation correspondant à chacun des couples de site.

Pour chaque type de croisement, quatre sortes de tétrades 6:2 ont été obtenues, qui présentent les caractéristiques suivantes. Les classes I et III (fig. III) correspondent à de simples conversions soit au niveau du site intermédiaire (III) soit au niveau d'un site extrême (I) qui est toujours le site marquant la souche simple mutante utilisée. La classe II correspond à une conversion simultanée

FIGURE III

	Classe I	Classe II	Classe III	Classe IV
A.B x C				
60.19 x 55	18	0	2	0
1467.19 x 55	27	0	4	0
2073.19 x 55	51	2	6	9
Total	96	2	12	9
A x B.C				
60 x 158.55	6	11	0	2
1467 x 158.55	0	2	0	1
60 x 19.55	0	0	1	5
Total	6	13	1	8

pour les deux sites de la souche double-mutante. Aucune conversion n'est décelée dans les asques de la classe IV, mais on y observe toujours un crossing-over entre le site intermédiaire et le site qui marque la souche simple mutante. Les images de la figure III schématisent ces résultats en même temps qu'elles font ressortir le génotype des quatre produits de la méïose pour chacune des classes. On trouvera dans la même figure la liste des croisements étudiés et pour chaque croisement le nombre de tétrades appartenant à chaque classe. Pour la commodité de lecture et d'interprétation, on sépare dans cette figure les résultats concernant les croisements A.B x C d'une part et les croisements A x B.C d'autre part.

L'observation de ces résultats appelle plusieurs remarques.

1 - On se souvient que ces observations ont été réalisées dans le but d'étudier les relations entre crossing-over et conversion. C'est surtout l'examen des classes III et IV qui est intéressant à ce sujet, puisqu'il s'agit dans tous les cas de recombinaison réciproque au niveau des sites extrêmes. Dans la classe IV rien n'indique qu'il ne s'agit pas d'un crossing-over banal et classique; dans la classe III le crossing-over est accompagné d'une conversion au niveau du site intermédiaire. Les chiffres obtenus à partir des croisements A x B.C sont trop faibles pour qu'une discussion à leur sujet soit valable. On retiendra seulement deux choses: d'une part les résultats sont hétérogènes et d'autre part la classe III existe, ce qui correspondrait à une probabilité extrêmement faible si les deux modalités de la recombinaison sont indépendantes. Les résultats fournis par les croisements A.B x C sont beaucoup plus significatifs et dans ce cas l'hétérogénéité observée ne fait qu'augmenter leur signification. Plus de la moitié des crossing-over correspondent à la classe III et dans le cas des deux premiers croisements 60.19 x 55 et 1467.19 x 55 c'est la totalité des crossing-over qui correspond à une ségrégation 1:3 pour le site B. D'une manière générale on retrouve donc sous une forme particulièrement nette les relations établies dans un autre locus du même organisme et on peut se demander à nouveau si dans

tous les cas un échange réciproque n'est pas accompagné d'une conversion (RIZET et ROSSIGNOL, 1966). Cela revient à admettre que les classes III et IV ne se distinguent que par la position de la conversion décelable ou non selon qu'elle englobe ou non le site B.

2 - Nous avons déjà signalé plus haut que la fréquence des recombinaisons dans le croisement A x B.C était nettement plus faible que dans le croisement A x B correspondant alors que dans ces deux croisements on décèle les mêmes événements. Si l'on tient compte par exemple dans le croisement 60 x 158.55 de l'existence de deux crossing-over pour six conversions au niveau de 60, il apparaît raisonnable de penser que la diminution de fréquence observée porte sur les deux modalités de la recombinaison. Ceci est à rapprocher de l'augmentation concomittante de ces mêmes modalités dans les croisements A x B et A x C intéressant le même site A. Il s'agit, de plus, de variations très plausibles dans l'hypothèse où conversion et crossing-over ne seraient que deux modalités du même phénomène.

3 - Plusieurs remarques pourraient être faites par exemple sur la fréquence élevée des conversions au niveau du site C dans le croisement A.B x C, ou sur les fréquences de conversions simultanées (classe II); mais ce qui apparaît le plus nettement en dehors de ce qui vient d'être développé c'est l'existence indéniable de crossing-over sur le sous-segment B - C. Dans les croisements à deux facteurs il ne s'agissait que de rarissimes exceptions dont la validité peut toujours être mise en doute. Il s'agit ici d'un fait bien établi dont il faudra tenir compte dans la discussion. Remarquons d'ailleurs que ce type d'événements dans les deux types de croisements (B x C et A.B x C) présente la même fréquence absolue, calculable à partir des tableaux I, V, XIet de la figure III (de l'ordre de 0,2 o/oo).

b) Etude des croisements A.C x B.

Trois croisements de ce type ont été étudiés (2073.55 x 158; 2073.55 x 19 et 1678.324 x 484). Tous fournissent une fréquence très faible d'asques 6:2 de l'ordre de 1/25.000 pour les deux premiers, de l'ordre de 1/50.000 pour le dernier.

Dans de tels croisements on peut penser que les recombinants sauvages résultent d'un événement complexe ou de deux événements se localisant de part et d'autre du site B. Nous avons donc comparé les fréquences obtenues avec les produits des fréquences relevées dans les croisements A x B et B x C correspondant (valeur théorique). On trouvera toutes les données recueillies ou calculées dans le tableau XII. Il apparaît nettement à la lecture de ce tableau que les fréquences d'asques 6:2 dans les croisements trifactoriels sont large-

TABLEAU XII - **Comparaison entre les fréquences des asques 6:2 observés dans les croisements à trois facteurs A. C x B et le produit des fréquences (fréquences théoriques) du même type d'asque dans les deux croisements A x B et B x C correspondant.**

I Croisements	Nb d'asques observés 8:0	6:2	fréquence des asques 6:2	fréquence théorique	Valeur de la coïncidence
2073.55 x 158	101.720	4	0,039 de 0,011 à 0,101	0,0024	16
2073.55 x 1844	21.150	1	0,047 de 0,001 à 0,26	0,0011	43
1678.324 x 484	469.000	8	0,013 de 0,007 à 0,075	0,0017	9

ment supérieures aux valeurs théoriques (coïncidence de 9, 16 et 43)x. On peut parler pour traduire ces résultats de forte interférence négative.

Cinq asques 6:2 issus des croisements 2073.55 x 158 et 2073.55 x 1844 ont été analysés. Tous correspondent à une conversion 1:3 au niveau du site B; dans tous, un seul produit de la méiose se révèle recombiné, les trois autres parentaux (un produit B et deux produits A.C). Cela revient à imaginer une conversion n'intéressant qu'un seul produit de la méiose (only one of the four strands) et qui dans l'optique évoquée précédemment n'est pas associée à un crossing-over. Il s'agit là d'une situation décelée très fréquemment dans les croisements à trois ou quatre facteurs de la série 75 (RIZET, communication

x 1678 x 484 = 1,33 o/oo; 484 x 324 = 1,28 o/oo

personnelle), ainsi que chez Neurospora (CASE and GILES, 1964; STADLER and TOWE, 1963).

Les cinq asques issus du croisement 1678.324 x 484 ont donné des résultats très différents. Chacun d'eux est constitué de la manière suivante: un produit sauvage, deux produits B et un produit double-mutant, ce qui revient à dire qu'une conversion est décelée au niveau de chacun des sites extrêmes. Il s'agit là d'une situation très particulière et qui pourrait être extrèmement intéressante s'il n'y avait aucune ambiguité. Malheureusement très peu de faits sont connus à propos des sites 1678 et surtout 484; et il n'est pas possible actuellement de mesurer la valeur de ce résultat.

c) Conclusion.

Plusieurs notions ressortent de l'analyse des croisements trifactoriels qui vient d'être exposée.

Les recombinaisons que l'on décèle dans les asques 6:2 intéressent dans une même tétrade, soit un seul, soit au maximum deux des produits de la méiose. Les autres (deux ou trois) sont de type parental. On retrouve donc une situation pratiquement identique à celle décrite chez Neurospora crassa (STADLER and TOWE, 1963; CASE and GILES, 1964), ou dans le cas de la série 75 d'Ascobolus immersus (RIZET et ROSSIGNOL, 1966; RIZET communication personnelle).

Si les conversions sont décelables à l'exclusion de crossing-over, le crossing-over peut être accompagné d'une conversion. La fréquence élevée de cette situation à partir de certains croisements est incompatible avec l'idée qu'il s'agit d'événements distincts; elle s'interprète beaucoup plus facilement si l'on admet qu'il s'agit de deux manifestations d'un mécanisme unique. Ceci impliquerait que les crossing-over tout comme les conversions simples présentent une dimension.

Alors que dans les croisements B x C les recombinaisons réciproques s'étaient révélées difficiles à mettre en évidence, leur

existence sur le même segment ne fait aucun doute à la suite de l'étude des croisements A.B x C.

Un dernier point mérite d'être signalé, la fréquence des recombinants entre les sites A et B est beaucoup plus faible dans les croisements A x B.C que dans les croisements A x B correspondants.

D - CONCLUSION DU CHAPITRE II.

1 - Certains des faits rapportés dans ce chapitre concernent les mêmes aspects que ceux traités au cours du chapitre I. Ils ne font que les compléter. Des éléments importants viennent à l'appui de ce que nous avons appelé la polarité des conversions qui se manifeste ici sous forme d'un double gradient de fréquences lorsqu'on s'éloigne du site 1028 localisé sur le sous-segment A. On retrouve donc la double polarité décrite précédemment avec une petite ambiguité concernant la localisation de l'inversion du sens de la polarité et dont nous aurons à discuter.

Quelle que soit la localisation de cette inversion il paraît clair qu'elle ne correspond pas à un point particulier au niveau duquel les conversions seraient totalement absentes.

2 - Beaucoup d'éléments concernent le phénomène de conversion lui-même. On le retrouve au niveau de tous les sites. La fréquence des conversions réciproques en un site peut être symétrique ou dissymétrique, les différences pouvant être importantes. Dans le cas des conversions 1:3 en particulier la fréquence n'est pas une constante: elle peut être différente dans les croisements mono et bifactoriels.

3 - Il existe des conversions en dehors de tout crossing-over, mais le problème est de savoir si un crossing-over peut exister en dehors de toute conversion. Nous retrouverons ces divers éléments au cours de la discussion générale qui fera l'objet du chapitre III.

C H A P I T R E III

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les notions de "polaron" et de "structure de liaison" (LISSOUBA, 1961) ont été utilisées pour interpréter les résultats préliminaires obtenus dans l'étude de la série 19 chez Ascobolus immersus (LISSOUBA, MOUSSEAU, RIZET et ROSSIGNOL, 1962). Les faits acquis depuis sur cette série et sur la série 46 du même organisme (ROSSIGNOL, 1964) vont nous permettre de discuter ces notions. Nous verrons à quelques nuances près, que la notion de polaron conserve tout son intérêt, et qu'il est possible de se représenter comment de telles structures sont disposées sur le chromosome.

Nous commencerons par discuter d'un aspect particulier de nos résultats: la non additivité des fréquences de recombinants.

Nous envisagerons ensuite l'ensemble des résultats concernant le phénomène de conversion. Nous insisterons en particulier sur la généralité de ce phénomène.

Enfin les notions de polaron et de structure de liaison seront discutées dans le cadre d'une conception plus générale de la recombinaison.

I - NON ADDITIVITE DES FREQUENCES DE RECOMBINANTS SAUVAGES.

La séquence linéaire de divers sites mutants d'un même gène peut être établie sans tenir compte de l'additivité des fréquences de recombinaison. Cela revient à utiliser soit des déficiences, soit des marqueurs extérieurs proches, soit les fréquences de recombinants

fournies par les croisements à deux ou trois facteurs (CASE and GILES, 1958; BENZER, 1959; ISHIKAWA, 1962; N. MURRAY, 1963; TESSMAN, 1965).

Dans un intervalle a - i, la fréquence des recombinants peut être évaluée en utilisant ou non des sites intermédiaires plus ou moins nombreux (b, c ...). Dans beaucoup de cas la fréquence globale est équivalente à la somme des fréquences partielles: il y a additivité des fréquences. On observe toutefois deux types d'exception à cette règle.

Dans le premier cas, que l'on sait banal à l'échelle du chromosome, c'est la fréquence globale qui est la plus faible (GAREN, 1960; EDGAR et al., 1962). Dans le second la fréquence globale est nettement plus élevée que la somme des fréquences partielles. Il en est ainsi dans nos propres observations et c'est une situation fréquemment décrite (HOLLIDAY, 1964; WEBBER, 1965; RIZET et ROSSIGNOL, 1966; FOGEL and HURST communication personnelle).

Certaines des observations faites pourraient rendre compte de la non additivité observée. C'est le cas de la "dimension" que l'on est conduit à donner à certains sites mutants (Chap. I, fig. II, page 17); c'est également le cas de la variation de fréquence de conversion pour un même site selon le croisement envisagé (Chap. II, Bd, page 57); c'est enfin le parallélisme entre les variations des fréquences de conversion et de crossing-over dans l'ensemble des croisements A x B et A x C qui intéressent un même mutant A (Chap.I, D page 34).

La plupart des mutants de la série 19 se présentent comme de "petites déficiences": chacun d'eux se révèle être homoallèle de plusieurs autres qui se recombinent entre eux (Tabl. II, a, b, c page 15). Ainsi, fréquemment la somme des fréquences partielles serait amputée de la "dimension" des mutants intermédiaires utilisés. Des preuves de ce phénomène peuvent être recherchées. Un intervalle quelconque peut généralement être divisé en deux de plusieurs manières selon la dimension du site intermédiaire utilisé. On peut penser que la somme des fréquences sera d'autant plus grande que le site intermédiaire sera plus petit. C'est ce qu'on trouve dans un certain nombre

de segments pour lesquels les mutants 72 et 158 de "taille" différente ont servi de site intermédiaire (Tabl. I, I'). Au niveau de la série 46 du même organisme, on observe pratiquement une additivité des fréquences de recombinants sauvages. Les mutants de cette série ont la même origine (spontanée) que ceux de la série 19; et on est conduit, là aussi, à leur donner une dimension (LISSOUBA, 1961; ROSSIGNOL, 1964). Cette remarque suggère, qu'au niveau de la série 19, si la dimension du (ou des) mutant(s) intermédiaire(s) joue un rôle dans la non additivité, ce rôle est relativement effacé.

On sait que dans certains croisements mutant x mutant les recombinaisons sont toutes issues de conversions alors que dans les autres elles proviennent soit de crossing-over soit de conversion. Dans ce dernier cas on peut se demander si les deux modalités contribuent l'une et l'autre à la non additivité observée.

A l'intérieur du locus 19, dans les croisements C x A et C x B la quasi totalité des conversions observées se situe au niveau de C (Tabl. V et V bis). Lorsqu'on envisage un même site C les conversions au niveau de ce site sont significativement plus nombreuses dans les croisements C x A que dans les croisements C x B. Les sites C marquant l'une des extrémités du segment, la fréquence des conversions à ce niveau participe aussi bien à la "fréquence globale" (C - A) qu'à la somme des "fréquences partielles" (C - B + B - A). Or nous venons de voir que la distance C - A mesurée uniquement par les conversions est supérieure à la distance C - B mesurée de la même manière. Le même phénomène se retrouve d'ailleurs si l'on envisage un même mutant C et divers mutants B, c'est-à-dire un segment (B - C) où le crossing-over est pratiquement absent. On a observé d'une manière plus générale que dans un croisement C x m, la fréquence des conversions observées au niveau de C est d'autant plus élevée que m est plus éloigné de C (voir Tabl. X, page 60). Il est clair que ce phénomène doit se traduire lorsqu'on envisage des segments très variés par une non additivité des fréquences dans le sens où nous l'avons observée.

Dans le cas des crossing-over les phénomènes sont encore plus évidents. Dans deux croisements A x B et A x C intéressant le même site A, on sait que les crossing-over sont plus fréquents dans le croisement A x C que dans le croisement A x B. Or on sait également que les crossing-over sont pratiquement absents dans le croisement B x C correspondant (Tabl. V). Même si cette anomalie reste à expliquer, il est clair qu'elle entraîne une fraction notable de la non additivité des fréquences.

Ainsi dans la non-additivité deux éléments au moins, d'importance très inégale paraissent intervenir. Ces deux éléments concernent les sites mutants du locus étudié. L'un,sans doute discret fait intervenir leur dimension, l'autre, de beaucoup le plus important, concerne les autres éléments de leur nature et surtout leur position.

II - LE PHENOMENE DE CONVERSION.

A l'origine la conversion a été définie par l'existence de ségrégations 1:3 et 3:1 au niveau d'un couple d'allèles. On lui reconnaît maintenant d'autres propriétés. Elle a une dimension (MOUSSEAU, 1966), elle a une polarité (LISSOUBA et RIZET, 1960); pour un même site, il peut y avoir ou non dissymétrie des fréquences de conversion 1:3 et 3:1 (OLIVE, 1959; RIZET et ROSSIGNOL, 1962); au niveau d'un même site la fréquence des conversions n'est pas une constante, elle varie selon le type de croisements envisagés.

a) Fréquences des conversions en un site.

1 - Dissymétrie des fréquences de conversion.

La dissymétrie des fréquences de conversion chez plusieurs organismes (loc. cit.) se présente comme une propriété de certains sites mutants. Cette dissymétrie peut être selon les sites soit en faveur des conversions 1:3 soit en faveur des conversions 3:1. Elle peut se manifester quelle que soit la fréquence globale des conversions observées. Le caractère dissymétrique peut d'ailleurs être plus ou moins prononcé.

Dans la série 19, la dissymétrie intéresse soit des mutants considérés comme punctiformes soit des mutants assimilés à des déficiences importantes. Dans le cas de telles déficiences la fréquence des conversions 3:1 est supérieure à celle des conversions 1:3. Chacune de ces déficiences recouvre plusieurs autres mutants: la fréquence des conversions 3:1 observée au niveau de chacun d'eux est significativement plus faible que celle caractérisant la déficience elle-même (Tabl. VII bis et IX pages 48 - 56). Dans le cas des transformations chez le Pneumocoque on connait un phénomène qui n'est pas sans analogie avec celui qui vient d'être évoqué: c'est l'inégalité des efficacités de transformation réciproques (LACKS, 1966). Or, il a montré que cette dissymétrie est d'autant plus accusée que les mutants envisagés correspondent à des accidents plus importants; ceci est vrai en particulier pour les mutants "recouvrant" un certain nombre de sites distincts.

Il n'est donc pas impossible que dans le cas de la série 19 la dissymétrie observée tienne à la nature même des mutants. On peut évoquer à ce sujet un autre phénomène caractéristique de certains mutants: c'est l'existence de ségrégations 3:5 et 5:3 que l'on retrouve aussi bien dans le locus 19 (mutant 60) que dans la série 46 (LISSOUBA, 1961). On sait d'ailleurs que dans la série 19, des homoallèles (60, 65 et 2073) peuvent se comporter différemment.

2 - Variation de la fréquence des conversions en un site.

Nous avons montré que la fréquence des conversions au niveau d'un site n'était pas une constante et dans notre cas, il ne s'agit pas comme dans d'autres situations (DE SERRES, 1958; CATCHESIDE et al., 1964; B. SMITH, 1966) de l'influence de facteurs génétiques extérieurs au locus. Il s'agit essentiellement de variations observées selon le type de "croisement intralocus" réalisé: croisement monofactoriel, divers croisements bifactoriels en position "trans" (Chap. II, Bd, page 57).

Nous ne rappélerons que la situation particulière du mutant 55. Dans le croisement 55 x sauvage la fréquence des conversions 1:3 au niveau de ce site est de 4,94 o/oo. Calculée à partir du croisement

270 x 55, qui pourtant ne permet pas de déceler les conversions simultanées, elle est significativement plus élevée (8,75 o/oo). Calculée à partir du croisement 19 x 55, qui réalise la même situation que le précédent, on assiste au contraire à une baisse significative. Dans ce cas particulier, il s'agit de deux sites placés sur le polaron B - C. On pourrait donc imaginer que la baisse observée mesure exactement la différence des fréquences de conversion en 55 et en 19 (mesurées à partir des croisements mutant x sauvage). Or on constate qu'il n'en est pas ainsi: la fréquence observée à partir du croisement 19 x 55 est inférieure à la différence des fréquences correspondant aux croisements monofactoriels.

Il ne paraît pas possible actuellement de fournir une interprétation satisfaisante de ces phénomènes. Mais on péut dire que les variations observées ne sont pas uniquement une conséquence de la dimension de la conversion. Comme nous l'avons déjà noté plus haut, nous parlerons pour les désigner d'une "action des sites mutants sur la recombinaison". Nous rappèlerons simplement que les résultats obtenus diffèrent sensiblement selon qu'on envisage la position trans ou la position cis des deux sites mutants (Chap. II, Bd page 57); que des résultats du même ordre ont été obtenus pour un autre locus (ROSSIGNOL, 1964); enfin qu'ils se retrouvent aussi bien pour les conversions 3:1 que pour les conversions 1:3.

b) Dimension des conversions.

Pour rendre compte de la polarité des conversions, LISSOUBA (1961) avait été conduit à admettre que cet événement avait une dimension. Un certain nombre de preuves expérimentales de cette hypothèse ont été apportées (RIZET et ROSSIGNOL, 1962; MOUSSEAU, 1966; BOUCHARENC, communication personnelle). Dans tous ces cas, ainsi que dans ceux qui ont été rapportés ici (Chap. II, Bb page 51), on a estimé la fréquence des conversions simultanées observées en deux sites d'un même locus, dont on connaît la fréquence des conversions simples. La fréquence des conversions simultanées est toujours très supérieure au produit des conversions simples: elle peut même, dans certains cas,

être équivalente à la plus faible de ces deux fréquences. En outre les diverses conversions simultanées observées montrent une caractéristique commune: on n'y décèle que des "combinaisons parentales" des deux couples d'allèles concernés. L'ensemble de ces résultats s'interprète aisément si l'on admet que chaque conversion simultanée correspond à un seul événement, qui intéresse au moins la totalité de l'intervalle délimité par les deux sites en jeu.

Des conversions simultanées ont été recherchées à partir de croisements A.B x C et A.C x sauvage. Dans ce dernier croisement certaines conversions intéressent en même temps le site A et le site C, donc entièrement le segment A - C. Dans le premier croisement certaines conversions n'intéressent que le site B. Il semble donc que la dimension de la conversion ne soit pas une constante. On pourrait alors supposer que la "dimension" de la conversion dans une région donnée varierait selon le nombre de sites d'hétérozygotie qui y sont établis et selon leur position. La "dimension" de la conversion se présenterait alors comme une variable de "l'action des sites mutants sur la recombinaison".

Les modèles de recombinaison utilisant le "copy-choice", permettent de rendre compte de l'ensemble des caractéristiques des conversions simultanées observées. A propos des modèles faisant intervenir le "D.N.A. Hybride" (WHITEHOUSE, 1963; WHITEHOUSE and HASTINGS, 1965; HOLLIDAY, 1964), il est nécessaire d'admettre que les réparations des deux sites d'hétérozygotie du D.N.A. hybride ne se font pas indépendamment.

c) Polarité des conversions.

LISSOUBA et RIZET (1960) ont montré que, sur un segment de la série 46, les recombinaisons correspondent toutes à des conversions. En outre dans les divers croisements mutant x mutant étudiés, la conversion intéresse toujours, ou presque toujours (ROSSIGNOL, 1964) celui des deux sites en jeu qui se trouve placé le plus à droite sur la carte factorielle orientée. De tels résultats permettent d'affecter au segment une polarité. Cette polarité devait traduire une

gradation de la fréquence des conversions d'une extrémité à l'autre du segment: c'est effectivement ce qui a été observé. En effet à partir de croisements mutant x sauvage intéressant divers sites répartis d'un bout à l'autre de ce segment, on a trouvé des fréquences croissantes de conversion (loc. cit.).

Les résultats d'études du même type faites sur la série 19 nous ont permis de scinder le segment correspondant en deux sous-unités présentant les mêmes caractéristiques que le polaron précédemment décrit (loc. cit.). Sur chacune d'elles toutes les recombinaisons correspondent à des conversions (Chap. I, D); ces conversions sont polarisées et leurs fréquences le long de chaque sous-segment établissent un gradient (Chap. I, D page 28 ; Chap. II, Ba page 47). Si ces deux sous-unités paraissent contiguës, on note de plus que leurs polarités sont inversées, cela se traduit également par une variation de la fréquence des conversions sur la totalité du segment selon une courbe en U. Il s'agit donc là d'une situation plus complexe que celle de la série 46. On y note en particulier l'existence d'une zone submédiane correspondant à un minimum de fréquence de conversion. On y observe également des croisements bifactoriels intéressant l'un et l'autre sous-segment et à partir desquels les recombinaisons proviennent soit de crossing-over soit de conversion.

La jonction entre les deux sous-segments qui correspond à l'inversion de la polarité est très voisine, ou se confond avec celle correspondant au minimum de fréquence de conversion. Mais nous avons vu que cette zone ne correspond pas à une absence totale de conversion (Chap. II, Bb page 51). Quoi qu'il en soit cette zone présente les mêmes propriétés que les "discontinuités" postulées par certains auteurs (N. MURRAY, 1963; ROSSIGNOL, 1964) pour rendre compte de la polarité de la recombinaison. Le fait que, dans notre cas au moins, la fréquence des conversions à ce niveau n'est pas nulle paraît difficilement superposable aux "discontinuités" postulées par FREEZE (1958) et TAYLOR (1958) afin de rendre compte de difficultés théoriques.

Rappelons enfin que, malgré sa structure complexe, le segment entier correspondant à la série 19 se comporte comme une seule unité de fonction (Chap. I, B page 22). S'il en est bien ainsi, il faut admettre que les résultats décrits ici n'apportent aucune information sur les propriétés de la limite de deux gènes adjacents.

Sur le locus 19, nous avons trouvé une polarité, non seulement dans les croisements intéressant un seul sous-segment mais également dans ceux intéressant les deux sous-unités. Nous avons vu que dans de tels cas les recombinaisons résultent soit de crossing-over, soit de conversion (Chap. I, D page 28). Mais nous avons vu également que la répartition des conversions n'était pas quelconque; dans les croisements C x A, elles concernent le site C; dans certains croisements A x B elles se produisent au niveau du site A (Chap. I, E page 38).

D'une manière plus générale, dans de tels croisements bifactoriels, la conversion se produit au niveau du site qui correspond à la plus haute des fréquences de conversion, calculées à partir des croisements mutant x sauvage. Notons cependant que dans deux croisements 270 x 55 et 270 x 324, intéressant tous deux le site 270, cette règle est en défaut: même là on trouve une polarité alors que les fréquences de conversion au niveau de 270 et 55 (ou 324) sont pratiquement équivalentes (Tabl. V, page 29 et VII bis page 48). On peut voir là une autre manifestation du rôle de la nature des mutants dans la recombinaison.

D'autres exemples de segments polarisés sont connus chez d'autres organismes. Schématiquement les expériences se présentent de la manière suivante. Comme dans les résultats de N. MURRAY (1963), les croisements intéressent non seulement deux couples de sites du même gène (position trans) mais également au moins deux autres couples de sites correspondant à des marqueurs extérieurs proches. Il s'agit essentiellement de mutants biochimiques au moins pour les deux couples du même "cistron". On crible les prototrophes dont on détermine les marqueurs extérieurs, ce qui permet de les répartir dans

les classes parentales ou recombinées. Le plus souvent on constate que les deux combinaisons parentales de marqueurs extérieurs ont des fréquences différentes. Ce fait traduirait une différence de fréquence de conversion au niveau des deux sites utilisés. On a trouvé ces phénomènes chez Aspergillus nidulans, Neurospora crassa et Saccharomyces cerevisiae. Dans la plupart des cas, ces résultats impliquent que les combinaisons parentales de marqueurs les plus nombreuses portent le site mutant le plus éloigné du centromère, qui correspondrait donc au site mutant montrant la plus haute fréquence de conversion (CALEF, 1957; PRITCHARD, 1960 a et b; B. SMITH, 1965; JESSOP and CATCHESIDE, 1965). C'est l'inverse dans d'autres cas (CASE and GILES, 1958; SHERMAN and ROMAN, 1963; HURST and FOGEL, 1964; WEBBER, 1965). Cela revient à dire que selon les cas, le sens de la polarité par rapport au centromère est variable (distal ou proximal). Dans certains cas d'ailleurs on a noté quelques indications d'inversion de polarité (STADLER and TOWE, 1963; SIDDIQI, 1962).

Si l'on tient compte de l'ensemble des données acquises il apparaît donc qu'il n'y a aucune relation évidente entre le sens de la polarité et la position du segment par rapport au centromère. Il se trouve donc, ce qui avait déjà été noté par ROMAN (1963), qu'il n'y a, à plus forte raison, aucune relation entre la fréquence des conversions en un site et la distance de ce site au centromère.

Par ailleurs, on sait que les conversions sont ou peuvent être à la base des recombinaisons mitotiques chez Saccharomyces cerevisiae (CLAVILLIER, 1962; LUZZATI, 1964). Ces recombinaisons se traduisent par l'apparition, dans une culture diploïde hétérozygote pour un couple d'allèles, d'individus homozygotes à ce niveau. Il n'est donc pas étonnant qu'aucune relation n'ait été trouvée entre la distance d'un site au centromère et la fréquence des homozygotes qui y sont obtenus (WILKIE and LEWIS, 1963). Dans le cas particulier du locus 19, se présentant comme une unité de fonction (Chap. I, B page 22); la fréquence des conversions le long du segment se présente comme une courbe en U, mais il n'est pas montré qu'il en est toujours ainsi

(HASTINGS and WHITEHOUSE, 1964). Pour vérifier cette hypothèse, il apparaît clairement que la meilleure méthode consiste à calculer la fréquence des conversions à partir de croisements mutant x sauvage à divers niveaux de segments chromosomiques correspondant à divers gènes.

III - NOTION DE POLARON ET DE STRUCTURE DE LIAISON; LE CONCEPT DE LA RECOMBINAISON.

Nous avons déjà rappelé la notion de "polaron" introduite par LISSOUBA et RIZET (1960). Il s'agissait à l'origine d'une structure linéaire polarisée sur laquelle les seules recombinaisons possibles sont des conversions. En atténuant un peu cette dernière propriété (ROSSIGNOL, 1964; Chap. I, E et II, C), on peut dire qu'une partie importante du locus 46 correspond à un polaron et que dans le locus 19 on trouve deux polarons contigus, de polarités inversées. "La structure de liaison" a été introduite pour rendre compte du fait, qu'à partir de certains croisements intra-locus, les recombinaisons étaient soit des conversions soit des crossing-over. Pour l'un et l'autre de ces locus, les expériences originelles étaient compatibles avec l'idée que les crossing-over étaient localisés. Dans le cas de la série 46, ils n'avaient été observés que dans les croisements entre le mutant 277, placé à une extrémité du locus, et quelques autres mutants; dans le cas du locus 19 on les avait rencontrés dans les croisements A x B et A x C et jamais dans les croisements A x A, B x B, C x C et B x C (RIZET, LISSOUBA et MOUSSEAU, 1960). De là était née l'idée que ces crossing-over se situaient, dans le premier cas (locus 46) entre le site 277 et les autres sites, et, dans le second (locus 19) entre les sites du groupe A et les sites du groupe B. Il paraissait logique d'en conclure que la localisation du crossing-over correspondait sur le segment à une structure particulière appelée structure de liaison. Pour compléter l'interprétation des phénomènes

il suffisait d'admettre qu'au niveau de la structure de liaison, une partie seulement des conversions se terminaient.

Il faut noter, que dans ce cadre, les notions de polaron et de structure de liaison sont complémentaires, et que les propriétés qu'elles définissent sont exclusives les unes des autres. Toute anomalie concernant l'une aura donc nécessairement des répercussions sur l'autre.

Or, même dans la série 46, qui a servi à définir ces notions, des anomalies ont été trouvées (ROSSIGNOL, 1964); quelques inversions de majoritaire et quelques recombinaisons réciproques décelées sur le polaron sont incompatibles avec la rigidité de sa définition originelle, en même temps qu'elles rendent beaucoup moins nette la notion de structure de liaison.

Nous avons eu l'occasion au cours des chapitres I et II de décrire pour la série 19 de nouvelles anomalies du même type. Par ailleurs, en tenant compte de nos résultats ou de résultats obtenus par d'autres auteurs, il apparaît maintenant que la dualité entre crossing-over et conversion est au minimum devenue moins rigide. C'est ces divers éléments que nous devons maintenant regrouper pour essayer de remettre au point les notions de structure de liaison et de polaron.

Dans la série 19, les anomalies relevées à propos des polarons décrits consistent essentiellement en inversion de majoritaire, exception dans le gradient de fréquence de conversion et en présence de recombinaison réciproque.

Parmi les 20 inversions de majoritaire décelées sur le polaron B - C (Tabl. V et V bis page 29), 12 intéressent des croisements impliquant le mutant 622; les autres se rencontrent sporadiquement surtout dans les croisements où de nombreuses tétrades sont connues. On peut donc admettre, comme dans la série 46 (ROSSIGNOL, 1964), qu'au

moins dans une part importante des cas, ces anomalies sont liées à certains sites mutants. Certaines conversions pourraient ainsi s'annuler avant d'attendre les limites du polaron et dans les cas du locus 19 nous avons vu que certaines conversions chevauchaient les deux polarons décrits (Chap. II, Bb page 51). Dans ce cas le rôle du site mutant particulier pourrait être la limitation de ce chevauchement.

A partir du minimum de fréquence de conversion, nous avons vu qu'on observait une double gradation des fréquences de ce type de recombinaison; mais nous devons rappeler aussi que des anomalies dans ces gradations ont été observées (Tabl. VII bis page 48). Ces anomalies concernent les mutants 1656 et 1844, pour lesquels les fréquences sont trop élevées par rapport à celles des sites contigus. Mais nous pouvons relever dans ce même tableau qu'il y a en réalité une double anomalie puisque dans chacun de ces cas, on note une dissymétrie des fréquences de conversion réciproques. Il semble donc que là encore les exceptions traduisent le comportement particulier de certains mutants plutôt qu'elles n'altèrent le schéma général.

Si l'existence même et les particularités de ces anomalies ne troublent pas fondamentalement la notion de polaron, les faits que nous avons décrits paraissent au contraire difficilement compatibles avec la notion de structure de liaison telle qu'elle a été décrite antérieurement (RIZET, LISSOUBA et MOUSSEAU, 1960). Nous nous bornerons à ce sujet, à rappeler quelques résultats significatifs.

Nous avons vu que nos sites mutants pouvaient être répartis en trois groupes A, B et C; les sites A marquant le premier polaron, les sites B et C le second. Avec trois mutants seulement on peut donc réaliser les croisements A x B, B x C et A x C. On en trouve de nombreux exemples au cours du chapitre I. Dans chaque série de trois croisements on aboutit à la situation schématique suivante. Les crossing-over sont pratiquement absents dans les croisements B x C puisqu'un seul polaron est impliqué. Le plus souvent ils sont

rares dans les croisements A x B, alors que leur fréquence est beaucoup plus élevée dans les croisements A x C correspondant. Dans la discussion qui précède nous aboutissons à l'idée que la structure de liaison supposée se situe entre les goupes A et B: il paraît clair que les faits que nous venons de rapporter et en particulier les différences entre les résultats des croisements A x B et A x C sont incompatibles avec cette idée. Ils s'expliquent au contraire beaucoup mieux si le crossing-over, tout comme la conversion, n'était pas localisé.

Cette manière de voir n'implique d'ailleurs rien quant aux rapports entre crossing-over et conversion; mais l'idée serait encore beaucoup plus satisfaisante si ces deux modalités de la recombinaison n'étaient que deux manifestations d'un même mécanisme fondamental.

A ce sujet nous apportons deux groupes d'informations différents.

Le premier n'est que le complément de ce qui vient d'être dit. Lorsqu'on compare les résultats des croisements A x B et A x C intéressant le même mutant A, non seulement les crossing-over sont plus fréquents dans le dernier de ces croisements, mais le même phénomène s'observe dans le même sens pour les conversions. Plus précisément on peut montrer que la variation de fréquence observée est la même pour l'un et l'autre de ces deux types de recombinaison. De tels phénomènes se comprennent beaucoup mieux si les crossing-over et les conversions n'ont pas de localisation différente.

Le deuxième groupe de faits intéresse des croisements au moins trifactoriels, dont l'analyse permet d'établir des relations beaucoup plus précises entre crossing-over et conversion. Lors de leur étude du locus "cystéine" chez Neurospora, STADLER (1959 a et b) et STADLER et TOWE (1963) ont déjà montré qu'une conversion au niveau d'un site de ce locus pouvait être associée à une recombinaison réciproque pour des marqueurs extérieurs proches. Dans une situation analogue lors de leur étude, du locus "pan$_2$", chez le même organisme,

CASE et GILES (1958, 1964) ont décrit le même phénomène en même temps qu'ils apportaient des faits impliquant la dimension de la conversion. Le même schéma d'expérience se retrouve dans les observations faites par KITANI et al. (1962) chez Sordaria; dans ce cas, de plus, l'utilisation de mutants morphologiques de spore permet une étude quantitative des phénomènes. Ces auteurs trouvent une corrélation entre l'existence d'une ségrégation impaire (3:5 ou 5:3) au niveau du site étudié et l'existence d'une recombinaison réciproque pour les marqueurs extérieurs; en outre dans chaque tétrade montrant le double phénomène, la même chromatide participe généralement à l'un et l'autre des mécanismes. Une corrélation moins stricte est également trouvée entre conversion (1:3 ou 3:1) au niveau du site étudié et crossing-over entre les marqueurs extrêmes. Chez Ascobolus, il s'agit de croisements intra-locus mais toujours de mutants morphologiques de spore. Dans le cas du locus 46 (ROSSIGNOL, 1964) et 75 (RIZET et ROSSIGNOL, 1966) il existe manifestement une corrélation forte entre l'apparition d'un crossing-over pour les sites extrêmes et celle d'une conversion pour le site intermédiaire. Ce sont des faits du même ordre que nous apportons dans l'étude du locus 19. Dans les croisements trifactoriels, dont les résultats sont groupés dans la figure III (page 67), on note en effet qu'une fraction très considérable des tétrades contenant un recombinant sauvage, pour lesquelles on observe un crossing-over entre les marqueurs extrêmes, ont été conjointement l'objet d'une conversion. On note même que c'est la situation de toutes les tétrades, à vrai dire peu nombreuses, analysées pour certains des croisements. Ajoutons que dans toutes les études intéressant Ascobolus et dans certains résultats intéressant Neurospora, il apparaît clairement qu'une fraction importante des conversions décelées dans des croisements où les marqueurs sont disposés différemment, ne sont pas accompagnées de crossing-over. Précisons enfin que dans ce cas, contrairement au précédent où généralement deux chromatides sont impliquées, un seul produit de la méiose se trouve remanié.

C'est à la suite de tels résultats que l'on a pu envisager qu'un crossing-over n'existerait jamais seul, mais qu'il serait constamment accompagné d'une conversion (RIZET et ROSSIGNOL, 1966). Les faits que nous apportons ici sont tout à fait en faveur de cette hypothèse. Ainsi avec cette conception, dans toute recombinaison il y aurait une conversion présentant une certaine dimension (MOUSSEAU, 1966). Deux modalités seraient alors possibles, qui conduiraient, l'une à une recombinaison non réciproque (fig. IV, a), l'autre à une recombinaison réciproque accompagnée d'une conversion (fig. IV, b).

Cette figure, qui en réalité ne correspond qu'à une description des résultats de l'analyse génétique, évoque le mécanisme de "copy-choice" proposé par LEDERBERG (1955).

Fig. IV

a b

Représente -t-elle ou non un mécanisme moléculaire qui serait à la base de la recombinaison?

Le "copy-choice" est lié à la duplication du matériel chromosomique qui se ferait en "copiant" d'un bout à l'autre chacun des modèles provenant de l'un et l'autre parent. Il pourrait se produire à ce moment pour l'une des copies un "changement de modèle" (switch), de telle sorte qu'à partir de là un des modèles se trouve copié deux fois alors que l'autre ne l'est pas. Un second "changement de modèle" (switching back) effacerait cette situation. Selon qu'il intéresse soit la copie non touchée par le premier (fig. IV, b) soit l'autre (fig. IV, a), il apparaît ou non une recombinaison réciproque entre les marqueurs situés de part et d'autre de la conversion.

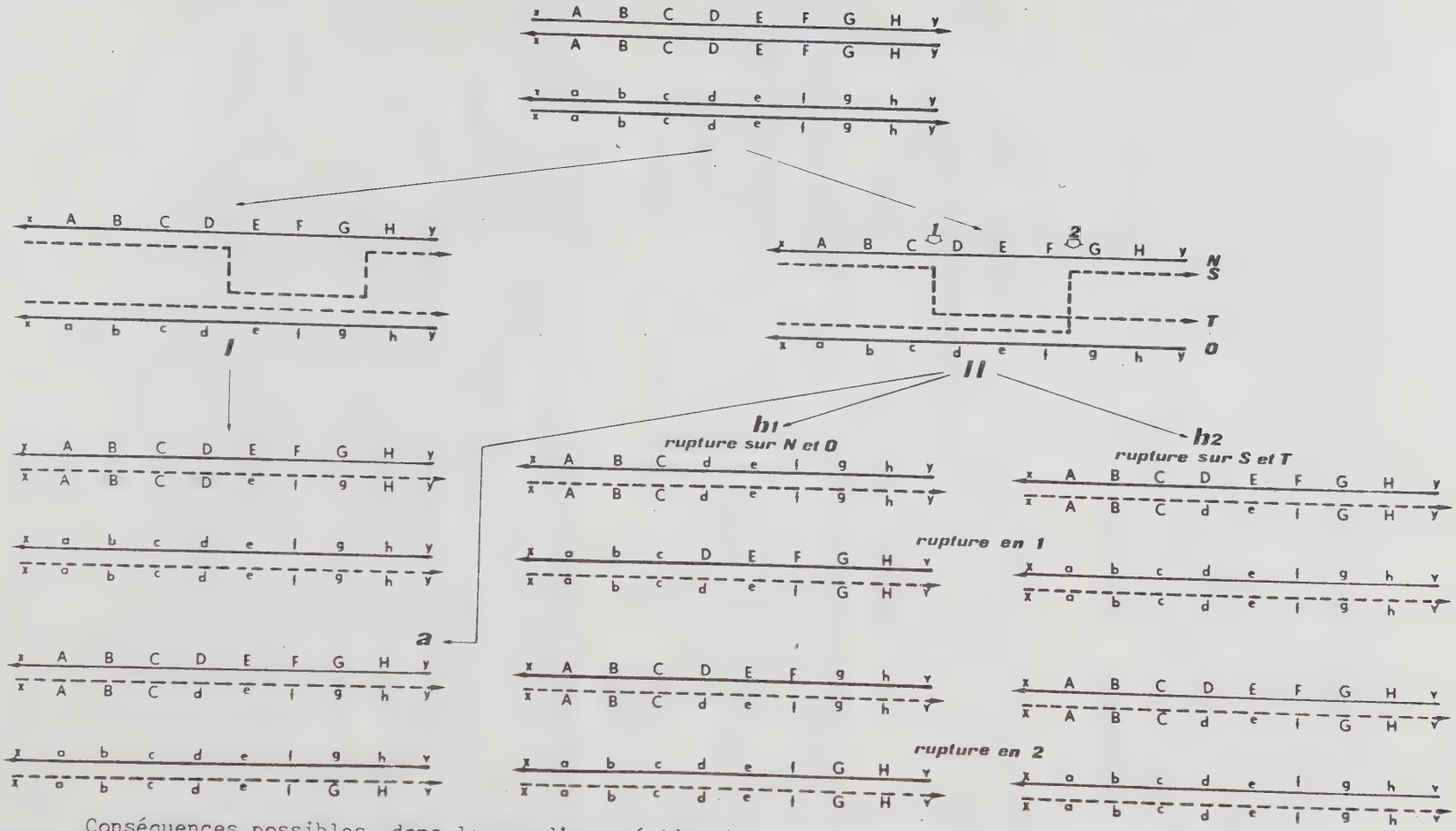
Ce mécanisme permet de rendre compte à lui seul des deux modalités de la recombinaison. Divers modèles l'utilisant ont été imaginés. Ils l'associent soit à une réplication conservative (FREEZE, 1957; STADLER and TOWE, 1963; BERNSTEIN, 1964), soit à une réplication semi-conservative du chromosome (TAYLOR, 1958). L'étude de la répartition des chromosomes marqués par de la thymidine tritiée, au cours de la méiose de la sauterelle (TAYLOR, 1965), est en faveur du dernier type de réplication.

En outre, pour des raisons parfois très différentes, les divers auteurs ont été conduits à considérer le chromosome comme une suite de molécules de D.N.A., reliées entre elles par des liens d'un type moléculaire différent: des discontinuités. Certains évoquent des raisons mécaniques (FREEZE, 1958; TAYLOR, 1958), d'autres y sont conduits par des résultats expérimentaux. Il s'agit dans ce dernier cas surtout des premiers résultats de l'étude de la recombinaison chez Ascobolus immersus (RIZET et al., 1960) qui suggéraient la présence de structure de liaison (voir page 83); c'était aussi la répartition dissymétrique des échanges de part et d'autre du gène "me_2" chez Neurospora crassa, qui permit à N. MURRAY (1963) d'évoquer la présence de discontinuité.

Nous avons vu qu'au niveau du segment chromosomique correspondant à la série 19, il en était comme s'il n'existait pas de discontinuité. La variation des fréquences de conversion qu'on y observe, se traduit par une courbe en forme de U dont le minimum est très faible mais non nul. Remarquons cependant que formellement, la présence d'un minimum de fréquence de conversion accusé conduit à des résultats qui ne sont pas très différents de ceux que l'on obtiendrait s'il y avait à la place une discontinuité.

En outre le mécanisme de "copy-choice" implique que l'événement qui conduit à la recombinaison ait une certaine dimension, nous avons obtenu des résultats en faveur de cette idée (Chap. II, Bc).

FIGURE V



Conséquences possibles, dans le cas d'une réplication semi-conservative, d'un mécanisme "copy-choice" accompagné ou non de rupture sur les hélices de même sens . Les images I et II_a n'impliquent aucune rupture. Les images II_{b1} et II_{b2} correspondent à deux ruptures se produisant soit en 1 soit en 2 , les hélices rompues pouvant être les hélices parentales (N et O) ou les hélices néoformées (S et T).

Compte tenu de ces acquisitions récentes, nous nous bornerons à considérer le modèle de recombinaison proposé par TAYLOR (1958) qui associe le mécanisme du "copy-choice" et une réplication semi-conservative du chromosome pour en tirer les conséquences possibles. Nous n'y apporterons qu'une seule modification fondamentale: il n'existera pas sur le segment considéré de "discontinuité". Il s'agira d'un segment délimité par deux minimums de fréquence de conversion (fig. V, sites x et y). Cette situation conduit à admettre que la très grande majorité des conversions qui s'établiront sur ce segment n'en dépasseront pas les limites. On admettra, ainsi que le propose TAYLOR, que le chromosome est formé d'une double hélice de D.N.A. (WATSON and CRICK, 1953).

Dans cette situation le changement de modèle se produit entre les hélices parentales de même sens (fig. V, I et II); la double copie de l'un des modèles se fait sur une certaine longueur (EFG, I et DEF, II). Le second changement de modèle qui rétablit une situation banale, concerne soit la copie qui a subi le premier (I) soit l'autre (II).

Dans la situation I, il ne doit exister entre les deux chromatides aucune liaison stable; la séparation pourra se faire aisément. On obtient de cette manière quatre produits de la méiose dont trois sont strictement du type parental. Le quatrième se trouve formé, dans la région délimitée par les deux changements de modèle (EFG) d'une hélice provenant d'un parent et d'une copie de l'hélice de même sens de l'autre parent. Il s'agit là de ce que WHITEHOUSE (1963) et HOLLIDAY (1964) appellent le "D.N.A. hybride". C'est une situation qui apparaissait dans le modèle de TAYLOR, mais que l'auteur considérait comme exceptionnelle.

Lorsque les deux changements de modèle concernent les deux hélices néoformées, la liaison entre les deux chromatides (N-S et T-O) doit être considérée comme plus stable.

Il est possible d'imaginer un système dans lequel la séparation se fera sans rupture. Il suffit d'admettre que la "région d'échange" (DEF) peut glisser vers l'une (ou l'autre) des extrémités du chromosome.

ce qui libèrerait les deux chromatides l'une de l'autre. Il s'agirait là d'un phénomène tout à fait superposable à la terminalisation des chiasmas. Ceci conduit à l'apparition de chromatides formées de "D.N.A. hybride" depuis l'un (ou l'autre) des points où s'est produit un changement de modèle (fig. V, II, 1 ou 2) jusqu'à l'extrémité distale du chromosome.

Il est aussi possible d'admettre l'occurrence de "ruptures" concernant les hélices de même sens et se produisant au niveau (ou au voisinage) des limites du changement de modèle (II). La réassociation des extrémités libres se ferait de telle sorte que les deux chromatides soient indépendantes.

Les ruptures peuvent intéresser les hélices parentales N et O (b_1). On obtient dans ce cas une recombinaison réciproque entre les marqueurs situés de part et d'autre de la région où s'est faite la double-copie. L'un des produits est constitué à ce niveau par du D.N.A. hybride (D/d - E/e - F/f). Si les ruptures se produisent sur les hélices néoformées S et T (b_2) on obtient alors un produit non parental; il s'agit d'une chromatide dont une région est constituée de D.N.A. hybride (D/d - E/e - F/f).

Les souches utilisées dans un croisement peuvent porter plusieurs marqueurs; l'un de ces sites d'hétérozygotie peut être placé au niveau de la région où s'établit le D.N.A. hybride, qui alors est dit "hétérozygote". A partir de cette situation , le modèle prévoit l'apparition d'une ségrégation impaire 3:5 ou 5:3 (TAYLOR, 1958), ce qui a été effectivement observé (OLIVE, 1959; RIZET, LISSOUBA et MOUSSEAU, 1960). Les ségrégations impaires seront accompagnées ou non de crossing-over pour les marqueurs extérieurs, qui concernera toujours la chromatide où s'est établi le D.N.A. hybride. L'étude de KITANI et al. (1962), concernant les ségrégations 3:5 et 5:3 au niveau d'un gène déterminant la coloration de l'ascospore chez Sordaria fimicola, montre qu'elles sont dans la très grande majorité des cas associées à un crossing-over. Ceci impliquerait alors, selon le

modèle de TAYLOR, une répartition non aléatoire des ruptures sur les hélices anciennes ou néoformées.

HOLLIDAY (1962) et WHITEHOUSE (1963) considèrent que l'appariemment illégitime des bases, qui existe au niveau du site d'hétérozygotie du D.N.A. hybride, est très généralement instable; il pourrait être réparé. L'une des deux bases serait remplacée par la base complémentaire de l'autre, ce qui conduit à une structure soit sauvage soit mutante. Divers auteurs ont mis en évidence la présence d'un mécanisme de réparation qui excise du chromosome les dimères de thymine formés par l'action des rayons U.V. (SETLOW and CARRIER, 1964; BOYCE and HOWARD-FLANDERS, 1964; PETTIJOHN and HANAWALT, 1964). Cette ablation d'ailleurs ne se limite pas aux seuls dimères de thymine mais s'accompagne de celle d'un certain nombre de bases contiguës à l'anomalie. Un tel mécanisme n'est pas sans évoquer la possibilité de réparation de sites d'hétérozygotie du D.N.A. hybride proposée (loc. cit.).

Rappelons à ce propos que les conversions simultanées concernant deux sites d'un même locus ne conduisent qu'à des structures parentales (voir pages 51 - 79). Cela peut signifier que les réparations des deux sites d'hétérozygotie ne sont pas indépendantes. Tout se passe comme si l'une ou l'autre des hélices du D.N.A. hybride était entièrement détruite, puis remplacée par une copie de l'hélice demeurée intacte. Selon l'hélice détruite, on obtiendra à ce niveau soit une ségrégation 2:2, soit une conversion.

Si ce mécanisme de correction est appliqué aux diverses situations schématisées dans la figure V, il est possible de prévoir les résultats suivants:

1 - Crossing-over associé à une conversion (II b_1).

2 - Conversion sans remaniement des marqueurs extérieurs (I et II b_2).

3 - Conversion s'étendant, à partir du changement de modèle, sur toute la région distale du chromosome (II a).

Il n'est pas possible a priori, de faire des hypothèses sur les probabilités d'apparition de ces diverses situations. Tout au plus on peut faire deux remarques. La première concerne le mécanisme II a qui, s'il était fréquent, devrait conduire à une fréquence de conversion d'autant plus grande que le site considéré est plus loin du centromère. Or nous savons qu'il n'en est pas ainsi (voir page 82). Nous devons donc le considérer soit comme impossible, soit comme très peu fréquent par rapport à celui qui implique des ruptures d'hélices (II b). La seconde concerne les résultats obtenus par KITANI et al. (loc. cit.), où l'on observe que 25 % des conversions sont accompagnées de recombinaison des marqueurs extérieurs. C'est ce qui peut être attendu si les situations I et II d'une part et B_1, B_2 d'autre part ont même probabilité.

Ce modèle conduirait à la répartition suivante des modalités de la recombinaison sur le segment x --- y. A partir de chacune des deux extrémités, qui, rappelons le, correspondent à deux minimums de fréquence de conversion contigus, on décèlera deux régions dont les propriétés seront celles d'un polaron. La "longueur" de ces polarons sera sous la dépendance de la dimension minimale de la conversion au niveau de ces régions. L'extrémité interne du polaron de gauche et celle du polaron de droite définiront une région médiane sur laquelle il sera possible de déceler des crossing-over (à partir de croisements dont les sites seront assez éloignés). Il n'y apparaîtra, par contre, pas de polarité; les conversions se produisant dans les croisements entre deux mutants qui s'y localisent, affectent selon les cas l'un ou l'autre site. Enfin à partir de croisements dont les deux sites en jeu se placent sur l'un et l'autre polaron, c'est-à-dire près de x ou de y, la fréquence relative des crossing-over observés sera d'autant plus grande que chacun des deux sites en jeu sera plus près de l'extrémité du segment. Les diverses situations décrites chez Ascobolus immersus s'intègrent dans ce schéma (ROSSIGNOL, 1964; RIZET et ROSSIGNOL, 1966; chap. I, D, E et F).

On peut d'ailleurs prévoir qu'il apparaîtra une certaine non additivité des fréquences de recombinant sur ce segment. Si l'on considère trois sites mutants, l'un placé dans la région médiane, chacun des deux autres près de l'une ou l'autre extrémité; le croisement entre deux mutants extrêmes ne fournira des recombinants issus que de crossing-over; les croisements entre l'un et l'autre de ces mutants et le mutant médian permettront de déceler en outre les conversions qui ne sont pas accompagnées de crossing-over (I et II B_2). La somme des distances partielles aura tendance à être supérieure à la distance totale.

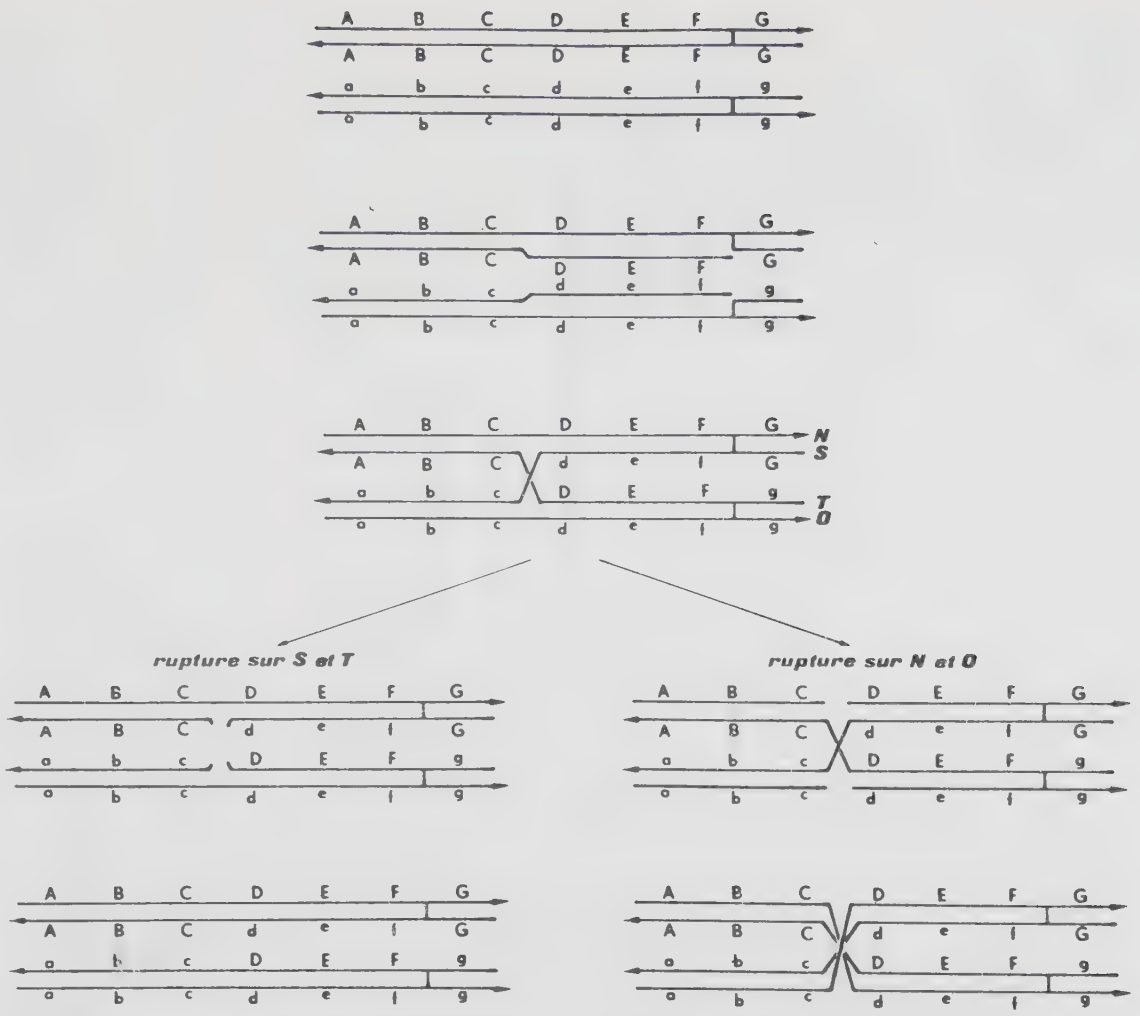
La non additivité des fréquences de recombinaison au niveau de la série 19 est cependant d'un autre type: la "distance globale" s'y révèle supérieure à la somme des "distances partielles" (chap. I, C page 24). L'analyse des résultats conduit à évoquer à ce propos, un effet des marqueurs ainsi que de leur position concernant les deux modalités de la recombinaison (Chap. III, page 75). La fréquence avec laquelle se produit un changement de modèle, la dimension de l'événement, le fait qu'il puisse intéresser une ou deux chromatides sont autant de variables sur lesquelles pourraient jouer la présence dans la région considérée d'une (ou de plusieurs) hétérozygotie(s), la nature même du mutant utilisé et dans le cas de dihybridisme la disposition relative des sites mutants. On peut aussi évoquer là, une action des marqueurs sur "l'appariement des régions strictement homologues" (WESTERGAARD, 1964) qui doit être une condition nécessaire, mais non suffisante de la recombinaison. Ces diverses suggestions ne font que souligner la complexité du problème. Cependant la "place" des sites mutants sur le segment chromosomique paraît avoir un rôle prépondérant puisqu'elle permet de rendre compte d'une fraction très importante des résultats obtenus chez l'Ascobolus immersus (LISSOUBA et al., 1962; ROSSIGNOL, 1964; RIZET et ROSSIGNOL, 1966).

Les propriétés de ce modèle de recombinaison, qui ne diffère de celui proposé par TAYLOR (1958) que par l'absence de discontinuité sur le segment de D.N.A. considéré, sont en accord avec un grand nombre de faits; cependant deux résultats ne sont pas expliqués.

On ne rend pas compte ainsi des doubles crossing-over intéressant trois chromatides, dont on connait l'existence même dans des intervalles peu importants (KITANI et al., 1962; STADLER and TOWE, 1963; RIZET communication personnelle). Cette remarque concerne d'ailleurs tous les modèles de type "copy-choice", qui utilisent une réplication semi-conservative, même si on admet qu'il y a des discontinuités sur le segment chromosomique. Le modèle en outre ne rend que difficilement compte de certains asques très aberrants décelés chez Sordaria au niveau du gène (g/g+) qui conditionne la coloration de la spore (loc. cit.). On y observe bien que le couple d'allèles (g/g+) dont on recherche les conversions, segrège 2:2, mais la disposition des spores "g" et "g+" suggère qu'une recombinaison est intervenue. L'étude de la répartition des marqueurs situés de part et d'autre de ce site fait apparaître que deux des quatre produits de la méiose montrent une recombinaison entre ces marqueurs; en outre pour chacun d'eux le couple d'allèles g:g+ est demeuré hétérozygote. Les deux autres produits de la méiose sont strictement parentaux. Il en est comme si le"D.N.A. hybride" s'était installé au niveau g/g+ dans deux des produits de la méiose qui en outre montrent une recombinaison pour les marqueurs extérieurs.

Ce type d'asques dont nous venons de parler et le fait qu'il apparaisse des ségrégations impaires (loc. cit.) se trouve sans doute à l'origine des modèles de recombinaison basés sur la formation de D.N.A. hybride.(WHITEHOUSE, 1963; HOLLIDAY, 1964), pour lesquels la recombinaison est indépendante de la réplication du matériel chromosomique. Dans les deux cas le D.N.A. hybride s'installe au même niveau sur deux chromatides homologues.

FIGURE VI



Modèle proposé par HOLLIDAY (1964) pour rendre compte de la conversion accompagnée ou non de crossing-over pour les marqueurs situés de part et d'autre.

Nous ne décrirons que le modèle proposé par HOLLIDAY (1964) dont le mécanisme est plus simple; puis nous signalerons les points communs et les différences qu'il présente avec le modèle proposé par WHITEHOUSE et HASTINGS (1964) et qui dérive de celui imaginé par le premier de ces auteurs (loc. cit.).

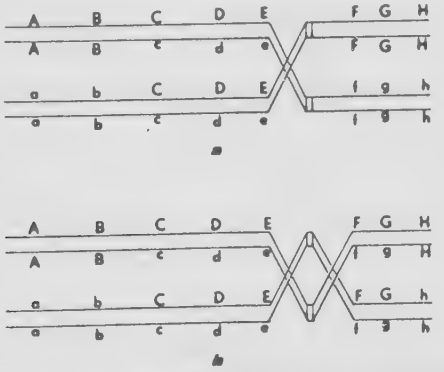
Après la duplication du matériel chromosomique et avant le déroulement de la méiose, deux chromatides sont attachées à chacun des centromères parentaux. Les chromatides seraient composées d'une double-hélice de D.N.A. dont les hélices sont orientées en sens inverse (hélices antiparallèles). L'auteur admet qu'il existe sur le chromosome des points particuliers (linkers) où peut se produire la rupture (rupture primaire) de l'une des deux hélices d'une chromatide (fig. VI). Cette rupture se produit sur les "hélices de même sens" des deux chromatides impliquées dans la recombinaison (qui sont les seules repésentées sur la figure VI), au niveau où elles s'attachent au "linker". A partir du point de rupture l'hélice libérée se détache de l'hélice complémentaire sur une certaine longueur (fig. VI). La réassociation, qui se produit ensuite, s'opère de telle manière que chacune des hélices dont l'extrémité est libre se réassocie à l'hélice complémentaire de l'autre chromosome (fig. VI, N - S et T - O).

Le D.N.A. hybride se trouve ainsi établi sur l'une et l'autre des chromatides concernées par la recombinaison en des régions strictement homologues. Il existe entre ces deux chromatides une liaison, qui est une conséquence du changement de partenaire des hélices rompues. Une seconde rupture, suivie de réassociation concernant là encore les hélices de même sens, permet de faire disparaître ce lien. Cette rupture peut affecter soit les hélices qui n'ont pas été touchées par la première (N et O), soit les autres (S et T). Dans le premier cas on observe une recombinaison pour les marqueurs situés de part et d'autre du D.N.A. hybride, dans le second il n'y a pas de recombinaison de ces marqueurs.

On sait que la fréquence relative des crossing-over parmi les recombinants sauvages issus des divers croisements A x B et A x C est spécifique du mutant A utilisé (Chap. I, page 34). Celui-ci se situe dans la région des faibles fréquences de conversion, c'est-à-dire plus près de la rupture secondaire que de la rupture primaire. Dans l'optique du schéma proposé par HOLLIDAY, le rôle des mutants A pourrait être en particulier de déterminer la position de la rupture secondaire.

Le schéma proposé par WHITEHOUSE et HASTINGS (loc. cit.) conduit à une situation différente en ce sens que le D.N.A. hybride se trouve toujours accompagné de la recombinaison de marqueurs extérieurs (fig. VII, a). Les auteurs considèrent que si l'on obtient une combinaison parentale de marqueurs, il s'est formé du D.N.A. hybride de part et d'autre de la région où se fait la rupture primaire de telle sorte que les deux crossing-over (reverse-crossover) s'annulent (fig. VII, b).

Fig. VII



Conséquences du modèle proposé par WHITEHOUSE et HASTINGS (1964) pour rendre compte des conversions accompagnées ou non de crossing-over pour des marqueurs extérieurs.

Certains de nos résultats concernent ce que WHITHOUSE et HASTINGS (loc. cit.) ont appelé effet de protection (shielding-effect) et qui conduirait à une non additivité des fréquences de recombinaison. Au

niveau d'un polaron, dans un croisement mutant x mutant l'hétérozygotie établie au niveau de celui des deux sites mutants utilisés, qui montre la fréquence de conversion la plus élevée, protègerait celui qui fournit la plus faible et empêcherait qu'il soit inclus dans le D.N.A. hybride (prevents its inclusion in hybrid D.N.A.; WHITEHOUSE, 1966). Les résultats concernant la série 19 ne paraissent pas conformes à cette idée. D'une manière générale, la fréquence des conversions observées, à partir de tels croisements au niveau du mutant qui se convertit le plus souvent, se trouve être significativement inférieure à celle calculée à partir du croisement mutant x sauvage (Tabl. X, page 60). Tout se passe donc comme si c'était la présence du mutant localisé le plus près du minimum de fréquence qui conduisait à la diminution de fréquence au niveau de l'autre mutant.

La région du minimum de fréquence serait d'ailleurs impliquée dans ce phénomène. Cet effet disparaît lorsqu'on utilise deux mutants situés de part et d'autre de cette région (voir page 57). Rappelons aussi que dans la descendance d'un croisement mutant x mutant, la fréquence relative des crossing-over (ou des conversions) dépend de celui des deux sites qui se localise le plus près du minimum de fréquence (voir Tabl. X, page 60). En outre la fréquence des conversions de chacun des mutants se comportant comme des déficiences importantes est du même ordre de grandeur que celle de celui des mutants qu'elle recouvre et situé le plus près du minimum de fréquence (Tabl. IX, page 56).

Sans comprendre la signification de l'ensemble de ces observations, elles forment un faisceau assez cohérent pour suggérer l'importance particulière qu'aurait la région du minimum de fréquence dans la recombinaison. Ces faits semblent être en contradiction avec l'hypothèse de "l'operator model of crossing-over" (WHITEHOUSE, 1966), par laquelle l'auteur localise le site régulant la recombinaison au niveau de la région où l'on doit déceler les fréquences de conversion les plus élevées.

Néanmoins ces divers modèles utilisant le D.N.A. hybride contiennent de nombreux paramètres qui leur confèrent une grande souplesse, ce qui permet de rendre compte des diverses caractéristiques de la recombinaison maintenant bien établie.

En conclusion, il est possible de dire que la notion de "polaron" demeure intéressante, bien qu'elle soit maintenant plus nuancée que la définition originelle. Il s'agit d'une région où se développe, d'un bout à l'autre, un gradient des fréquences de conversion, et sur laquelle c'est quasiment la seule modalité de la recombinaison à se produire. Ces faits peuvent être mis en relation avec la dimension des conversions et la présence de minimums de fréquence de conversion sur le chromosome.

La notion de structure de liaison par contre, paraît peu compatible avec la conception que l'on a maintenant de la recombinaison: le crossing-over et la conversion ne seraient que deux aspects, observés à des niveaux différents d'un mécanisme unique.

Une conversion peut se produire sans être accompagnée de recombinaison réciproque pour les marqueurs extérieurs. Un crossing-over apparaissant entre deux couples de sites peut ou non être associé à une conversion au niveau d'un site intermédiaire; mais la question a été posée de savoir si tout crossing-over se trouve lié à une conversion, c'est-à-dire si le crossing-over a lui aussi une dimension.

Nous avons repris le schéma de recombinaison proposé par TAYLOR, en insistant que la possibilité d'apparition de D.N.A. hybride; nous en avons recherché alors les conséquences. Certains de nos résultats nous ont conduit à discuter des aspects particuliers des modèles de recombinaison proposés par HOLLIDAY et par WHITEHOUSE. Les schémas considérés contiennent assez de paramètres pour rendre compte des divers aspects de la recombinaison et, en particulier, de l'effet des marqueurs qui concerne aussi bien le crossing-over que la conversion et qui apparaît clairement dans la situation que nous avons analysée.

R E S U M E

L'étude qui précède concerne la structure fine d'un locus de l'Ascomycète octosporé Ascobolus immersus dont dépend la coloration de l'ascospore. Ce système permet donc d'obtenir des ségrégations visibles dans les asques, et en particulier, à partir de croisements mutant x mutant, de déceler immédiatement les tétrades contenant les recombinants sauvages. De nombreux sites mutants différents ont été localisés et dans beaucoup de cas la fréquence de recombinants sauvages est suffisante pour rendre possible une étude quantitative des recombinaisons.

Les divers résultats acquis dans ce travail peuvent se résumer de la manière suivante:

1 - Une carte des sites de ce locus a été établie. On a déterminé d'abord l'ordre de sept sites couvrant l'ensemble du segment. Pour établir cet ordre on a tenu compte des fréquences de recombinaison calculées à partir de nombreux croisements mutant x mutant et du résultat de croisements à trois facteurs; on a utilisé également certains mutants considérés comme des déficiences. On a été conduit à une carte unique qui a servi de base pour la localisation des autres sites.

2 - Si la carte obtenue est linéaire on n'observe pratiquement jamais d'additivité dans les fréquences de recombinaison. Lorsqu'on envisage trois sites mutants, donc trois croisements à deux facteurs, la fréquence de recombinaison la plus élevée (entre sites extrêmes) est presque toujours très supérieure à la somme des deux autres.

3 - L'obtention de spores doubles diploïdes ou hétérocaryotiques a permis de rechercher s'il y avait complémentation entre les divers sites mutants. L'absence totale de complémentation n'est pas contraire à l'idée que ce locus est constitué d'un seul cistron.

4 - Les tétrades contenant des recombinants sauvages résultent soit de crossing-over soit de conversion. La répartition de ces événements permet de scinder le locus en deux sous-unités. Lorsqu'un croisement intéresse deux sites placés sur la même sous-unité il s'agit presque uniquement de conversions; quelques rares recombinaisons réciproques ont cependant été décelées sur la deuxième sous-unité. Lorsqu'un croisement intéresse deux sites placés sur des sous-unités différentes les recombinaisons résultent selon les tétrades, de crossing-over ou de conversion. Dans ce cas la fréquence relative de ces mécanismes varie avec les croisements envisagés et dépend largement du site mutant appartenant à la première sous-unité.

5 - Les fréquences de conversion 1:3 et 3:1 ont été calculées à partir de croisements mutant x sauvage pour chacun des sept sites principaux qui jalonnent la carte. Ces fréquences sont différentes mais toutes situées entre les valeurs extrêmes 0,20 o/oo et 5,05 o/oo. Le minimum est obtenu pour un site sub-médian (1028). De part et d'autre de ce site les fréquences sont croissantes, quelques anomalies sont cependant observées: elles correspondent à des cas où les convérsions 1:3 et 3:1 ont des fréquences différentes.

Le minimum de fréquence est voisin de la limite entre les deux sous-unités définies précédemment, mais il n'est pas démontré qu'il y a correspondance entre les deux.

6 - Dans un croisement à deux facteurs localisés sur une même sous-unité, les conversions 1:3 observées intéressent presque toujours le même site. Cela définit une "polarité" qui est unique sur chacune des deux sous-unités; mais les deux sous-unités ont des polarités opposées. On peut mettre cette situation en parallèle avec la variation des fréquences de conversion déjà signalée. Le minimum pourrait correspondre à la jonction entre les deux polarités. La "polarité" elle-même ne serait alors qu'une conséquence des différences de fréquences de conversion au niveau des divers sites.

Une polarité se retrouve également dans des croisements bifactoriels intéressant les deux sous-unités. On peut l'interpréter de la même manière dans la plupart des cas, mais il n'en est pas toujours ainsi.

7 - On a également calculé les fréquences des conversions à partir des croisements double-mutant x sauvage qui permettent d'observer les conversions au niveau de chacun des sites, et les conversions simultanées. Dans tous les cas,la fréquence de ces dernières est anormalement élevée: c'est une manifestation de la "dimension" des conversions. Dans le cas où les deux sites mutants sont placés de part et d'autre du minimum de fréquence de conversion, les fréquences des conversions simultanées présentent un caractère remarquable: elles ne diffèrent pas statistiquement de la fréquence des conversions du site 1028 qui correspond au minimum. Ces faits paraissent incompatibles avec l'existence d'une "discontinuité" au niveau de laquelle la fréquence des conversions serait nulle.

8 - Certains mutants recueillis paraissent correspondre à des déficiences recouvrant une fraction importante du locus. Ces mutants croisés avec sauvage permettent d'obtenir non seulement des conversions 1:3 mais également des conversions 3:1. Dans les derniers les trois produits mutants portent la totalité de la déficience.

Chaque déficience recouvre plusieurs sites caractérisés par des fréquences de conversion variées. La plus faible ne diffère pas statistiquement de celle obtenue dans le croisement déficience x sauvage.

9 - La fréquence des conversions au niveau d'un site n'est pas une constante. Elle peut différer selon qu'on la tire de croisements mono- ou bifactoriels et dans ce dernier cas selon que les sites mutants sont en position cis ou trans.

Par ailleurs dans les croisements bifactoriels en position trans la "distance" entre les sites est importante. A ce sujet le site 55 a fait l'objet d'études approfondies. La fréquence des conversions

à son niveau est d'autant plus élevée que la "distance" entre les deux sites est plus grande.

De telles observations sont de nature à rendre compte, au moins partiellement, de la non additivité déjà signalée.

10 - L'analyse de croisements à trois facteurs nous a permis de déceler parmi les tétrades correspondant à une recombinaison réciproque pour les sites extrêmes, une fraction importante montrant en même temps une conversion du site intermédiaire. C'est même le seul type de tétrade rencontré dans deux croisements où un petit nombre d'asques a été analysé. Ces faits ajoutés à d'autres déjà décrits sont de nature à reposer le problème du mécanisme du crossing-over.

11 - Dans la discussion générale nous avons soulevé quelques problèmes plus généraux et en particulier essayé de voir si l'ensemble des faits rapportés était conforme à quelques conceptions développées antérieurement sur la structure du gène. Nous avons discuté en particulier des notions de polarité, de polaron et de discontinuité.

Non seulement une polarité a été mise en évidence mais une double polarité de sens opposé a été établie. On retrouve donc deux polarons. Toutefois ces deux polarons ont des propriétés moins rigides que celles reconnues au modèle originel: non additivité des fréquences, existence certaine de rares crossing-over, polarité parfois imparfaite des conversions. Ces polarons ne constituent sûrement pas des unités génétiques au sens habituel du terme. Leur existence paraît liée aux différences de fréquences de conversion des divers sites et les deux polarons décrits sont la conséquence d'une double gradation de ces fréquences à partir d'un site médian. Rien ne s'oppose à l'idée que ces deux polarons correspondent au même cistron.

La structure de ce locus paraissait tout à fait favorable à un nouvel examen de la notion de discontinuité soulevée ailleurs et en particulier sous la forme de "structure de liaison" où se

localiseraient les crossing-over. Si la jonction entre les deux polarités décrites correspond à une fréquence très faible de conversion les faits rapportés sont très difficilement compatibles avec l'idée qu'elle correspond à une discontinuité réelle sur le segment chromosomique. Dans les croisements impliquant deux sites placés de part et d'autre de cette région la fréquence des crossing-over croît en même temps que la distance entre les sites: de tels résultats se comprennent très difficilement si le crossing-over est localisé.

B I B L I O G R A P H I E

ALTENBURG (E.)and ALTENBURG (L.S.) - 1959 - Comparative crossing-over rate in the trans and cis arrangement of alleles at the white locus in Drosophila (Genetics, 44, 498).

ALTENBURG (E.) and BROWNING (L.S.) - 1965 - A comparaison of the rate of exceptionals recovered among progeny of females heterozygous for lozenge pseudo-alleles in trans and cis arrangements in Drosophila (Genetics, 51, 593 - 600).

BENZER (S.) - 1959 - On the topology of the genetic fine structure. (Proc. Nat. Acad. Sci. U.S., 45, 1607 - 1620). - 1962 - The fine structure of the gene (Scientific american, jan., 70 - 84).

BERNSTEIN (H.) - 1964 - On the mechanism of intragenic recombination : II Neurospora crassa (J. théor. Biol., 6, 347 - 370).

BOUCHARENC (M.), MOUSSEAU (J.) et ROSSIGNOL (J.L.) - 1966 - Sur l'action de la température sur la fréquence des recombinaisons réciproques et non réciproques au sein du locus 75 de l'Ascobolus immersus (C.R.A.S., 262, 1589 - 1592).

BOYCE (R.P.) and HOWARD-FLANDERS (P.) - 1964 - Relase of ultraviolet light-induced thymine dimers from D.N.A. in E. coli K_{12} (Proc. Nat. Acad. Sci. U.S., 51, 293 - 300).

CALEF (E.) - 1957 - Effect on linkage maps of selection of cross-overs between closely linked markers (Heredity, 11, 265 - 279).

CASE (M.E.) and GILES (N.H.) - 1958 - Evidence from tetrad analysis for both normal and aberrant recombination between allelic mutants in Neurospora crassa (Proc. Nat. Acad. Sci. U.S., 44, 378-390).- 1964 - Allele recombination in Neurospora: tetrad analysis of a three-points cross within the pan_2 locus (genetics, 49, 529 - 540).

CATCHESIDE (D.G.), JESSOP (A.P.) and SMITH (B.R.) - 1964 - Genetics controls of allelic recombination in Neurospora (Nature, 202, 1242 - 1243).

CHASE (M.) and DOERMANN (A.H.) - 1958 - High negative interference over short segments of the genetic structure of bacteriophage T_4 (Genetics, 43, 332 - 353).

CLAVILLIER (L.) - 1962 - Recherches sur la spécificité génétique de l'inhibition par l'histidine des réversions chez la levure Saccharomyces cerevisiae (Thèse de 3ème cycle, Faculté des Sciences, PARIS).

DE SERRES (F.J.) - 1958 - Recombination and Interference in the ad_3 region of Neurospora crassa (Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., XXIII, 111 - 118).

EDGAR (R.S.), FEYNMAN (R.P.), KLEIN (S.), LIELAUSIS (I.) and STEINBERG (C.M.) 1962 - Maping experiments with r mutants of bacteriophage T_4D (Genetics, 47, 179 - 186).

FREEZE (E.) - 1957 - The correlation effect for a histidine locus of Neurospora crassa (Genetics, 42, 671 - 684).- 1958 - The arrangement of D.N.A. in the chromosome (Cold Spring Harbor Symp. Quant., XXIII, 13 - 18).

GAREN (A.) - 1960 - Genetic control of alkaline phosphatase (Microbial Genetics, Cambridge Univ. Press., London, 10, 239 - 247).

GREEN (M.M.) and GREEN (K.C.) - 1949 - Crossing-over between alleles at the lozenge locus in Drosophila melanogaster. (Proc. Nat. Acad. Sci. U.S., 35, 586 - 591).

HASTINGS (P.J.) and WHITEHOUSE (H.L.K.) - 1964 - A Polaron model of genetic recombination by formation of Hybrid Deoxyribonucleic Acid (Nature, 201, 1052 - 1054).

HOLLIDAY (R.) - 1962 - Mutation and replication in Ustilogo maydis (Genet. Research, 3, 472 - 486).- 1964 - A mechanism for gene conversion in fungi (Genet. Research, 5, 282 - 304).

HURST (D.D.) and FOGEL (S.) - 1964 - Mitotic recombination and heteroallelic repair in Saccharomyces cerevisiae (Genetics, 50, 435 - 458).

ISHIKAWA (T.) - 1962 - Genetic studies of ad_8 mutants in Neurospora crassa. I : Genetic fine structure of the ad_8 locus (Genetics, 47, 1147 - 1161).

JESSOP (A.P.) and CATCHESIDE (D.C.) - 1965 - Interallelic recombination at the his_1 locus in Neurospora crassa and its genetic control (Heredity, 20, 237 - 256).

JUPIN (H.) - 1965 - Etude préliminaire des phénomènes de sexualité chez l'ascomycète Ascobolus immersus (Diplôme d'études supérieures, Faculté des Sciences, ORSAY).

KITANI (Y.), OLIVE (L.S.) and EL-ANI (A.S.) - 1962 - Genetics of Sordaria fimicola. V : aberrant segregation at the *g* locus (Amer. J. Bot. , 49, 697 - 706).

LACKS (S.) - 1966 - Integration efficiency and genetic recombination in pneumococcal transformation (Genetics, 53, 207 - 235).

LISSOUBA (P.) - 1961 - Mise en évidence d'une unité génétique polarisée et essai d'analyse d'un cas d'interférence négative (Ann. Sci. Nat. Bot., I, 44, 641 - 720).

LISSOUBA (P.) et RIZET (G.) - 1960 - Sur l'existence d'une unité génétique polarisée ne subissant que des échanges non réciproques (C.R. A.S., 250, 3408 - 3410).

LISSOUBA (P.), MOUSSEAU (J.), RIZET (G.) and ROSSIGNOL (J.L.) - 1962 - Fine structure of genes in Ascobolus immersus (Adv. in Genet., 11, 343 - 380).

LUZZATI (M.) - 1965 - Inhibition spécifique de la recombinaison intragénique (Thèse de Doctorat es Sciences, Faculté des Sciences, PARIS).

MAGNI (G.E.) - 1963 - The origin of spontaneous mutations during meiosis (Proc. Nat. Acad. Sci. U.S., 50, 975 - 980).

MARCOU (D.) et PICARD (M.) - 1967 - Sur l'intérêt du Podospora anserina pour l'étude des problèmes de la recombinaison (C.R.A.S., 264, 759 - 762).

MITCHELL (M.B.) - 1955 - Aberrant recombination of pyridoxine mutants of Neurospora (Proc. Nat. Acad. Sci. U.S., 41, 215 - 220).

MOUSSEAU (J.) - 1963 - On the possibility of carrying out the functional test for allelism in the Ascomycete Ascobolus immersus (Proc. XIth Int. Cong. Genet., 1, 36). - 1966 - Sur les variations de fréquences de conversion au niveau de divers sites d'un même locus (C.R.A.S., 262, 1254 - 1257).

MURRAY (N.E.) - 1963 - Polarized recombination and fine structure within the me_2 gene of Neurospora crassa (Genetics, 48, 1163 - 1183).

OLIVE (L.S.) - 1959 - Aberrants tetrads in Sordaria fimicola (Proc. Nat. Acad. Sci. U.S., 45, 727 - 732).

PARSONS (P.A.) - 1957 - An effect of gene arrangement on the recombination fraction in Drosophila melanogaster (Heredity, 11, 117 - 127).

PETTIJOHN (D.) and HANAWALT (P.) - 1964 - Evidence for repair - replication of ultra-violet damaged D.N.A. in bacteria (J. Mol. Biol., 9, 395 - 410).

PICARD (M.) - 1966 - La structure d'un locus complexe chez l'ascomycète Podospora anserina (Thèse de 3ème cycle, Faculté des Sciences, ORSAY).

PRITCHARD (A.H.) - 1960a - Localised negative interference and its bearing on models of gene recombination (Genet. Research, 1, 1-24). - 1960b - The bearing of recombination analysis at high resolution on genetic fine structure in Aspergillus nidulans and the mechanism of recombination in higher organisms (Microbial Genetics, Cambridge Univ. Press, London, 10, 155 - 180).

PUTRAMENT (A.) - 1964 - Mitotic recombination in the paba$_1$ cistron of Aspergillus nidulans (Genet. research, 5, 316 - 327).

RIZET (G.), ENGELMANN (N.), LEFORT (C.), LISSOUBA (P.) et MOUSSEAU (J.) - 1960 - Sur un Ascomycète intéressant pour l'étude de certains aspects du problème de la structure du gène (C.R.A.S., 270, 2050 - 2052).

RIZET (G.) et ROSSIGNOL (J.L.) - 1962 - 1963 - Sur la dissymétrie de certaines conversions et sur la dimension de l'erreur de copie chez l'Ascobolus immersus (Revista de Biologia, 3, 261 - 268). - 1963 - Recombination mechanisms within a complex locus in Ascobolus immersus (Communication au XI° Congrès International de génétique - La Haye). - 1966 - Sur la dimension probable des échanges réciproques au sein d'un locus complexe d'Ascobolus immersus (C.R.A.S., 262, 1250 - 1253).

RIZET (G.), LISSOUBA (P.) et MOUSSEAU (J.) - 1960 - Les mutations d'ascospores chez l'Ascomycète Ascobolus immersus et l'analyse de la structure fine des gènes (Bull. Soc. Fr. Physiol. Veg., 6, 175).

ROMAN (H.) - 1956 - Studies of gene mutation in Saccharomyces (Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., XXI, 175 - 185). - 1963 - Gene conversion (In "Methodology in basic genetics", W.J. Burdette editor, 209 - 227).

ROSSIGNOL (J.L.) - 1964 - Phénomènes de recombinaison intragénique et unité fonctionnelle d'un locus chez l'Ascobolus immersus (Thèse de 3ème cycle, Faculté des Sciences, ORSAY).

SETLOW (R.B.) and CARRIER (W.L.) - 1964 - The disappearance of thymine dimers from D.N.A.: an error-correcting mechanism (Proc. Nat. Acad. Sci. U.S., 51, 226 - 231).

SIDDIQI (O.H.) - 1962 - The fine structure of the paba 1 region of Aspergillus nidulans (Genet. Research, 3, 69 - 89).

SHERMAN (F.) and ROMAN (H.) - 1963 - Evidence for two types of allelic recombination in Yeast (Genetics, 48, 255 - 262).

SMITH (B.R.) - 1965 - Interallelic recombination at the his_5 locus in Neurospora crassa (Heredity, 20, 257 - 276). - 1966 - Genetic controls of recombination. I: The recombination-2 gene of Neurospora crassa (Heredity, 21, 481 - 498).

STADLER (D.R.) - 1959a - Gene conversion of cysteine mutants in Neurospora (Genetics, 44, 647 - 655). - 1959b - The relationship of gene conversion to crossing-over in Neurospora crassa (Proc. Nat. Acad. Sci. U.S., 45, 1625 - 1629).

STADLER (D.R.) and TOWE (A.) - 1962 - Genetic factors influencing crossing-over frequency in Neurospora (Genetics, 47, 839 - 846). - 1963 - Recombination of allelic cysteine mutants in Neurospora (Genetics, 48, 1323 - 1344).

TAYLOR (J.H.) - 1958 - The organisation and duplication of genetical material (Proc. Xth Int. Genet. Cong., 2, 63 - 78). - 1965 - Distribution of tritium labelled D.N.A. among chromosomes during meiosis I: spermatogenesis in grass hopper (J. Cell Biol., 25_2, 57 - 67).

TESSMAN (I.) - 1965 - Genetic ultrafine structure in the T_4RII region (Genetics, 51, 63 - 75).

WATSON (J.D.) and CRICK (F.M.C.) - 1953 - The structure of D.N.A. (Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., XVIII, 123 - 131).

WEBBER (B.B.) - 1965 - Genetical and biochemical studies of histidine-requiring mutants of Neurospora crassa: IV Linkage relationship of his_3 mutants (Genetics, 51, 275 - 283).

WESTERGAARD (M.) - 1964 - Studies on the mechanism of crossing-over I: Theorical considerations (C.R. TRAV. LAB. Carlsberg, 359 - 405).

WHITEHOUSE (H.L.K.) - 1963 - A theory of crossing-over by means of hybrid desoxyribonucleic acid (Nature, 199, 1034 - 1040). - 1966 - An operator model of crossing-over (Nature, 201, 708 - 717).

WHITEHOUSE (H.L.K.) and HASTINGS (P.J.) - 1965 - The analysis of genetic recombination on the polaron hybrid D.N.A. model (Genet. Research, 6, 27 - 92).

WILKIE (D.) and LEWIS (D.) - 1963 - The effect of ultraviolet light on recombination in Yeast (Genetics, 48, 1701 - 1716).